# Biologischer Nachweis von Herbiciden

---

von

**Irene Breitenlohner**

**aus Hannover**

1966

1966 № 279

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535727_0038

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

---

# Biologischer Nachweis von Herbiciden

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Irene Breitenlohner
aus Hannover

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen - Nürnberg

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Dekan: Prof. Dr. K.G.Ober
Referent: Priv.-Doz.Dr.Dr.M.Geldmacher-v.Mallinckrodt
Koreferent: Prof. Dr.Dr.E.Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Dezember 1966

Inhaltsverzeichnis


| | | Seite |
|---|---|---|
| I. | Einleitung | 6 |
| II. | Geschichte des Auxins und der Entwicklung der Wuchsstoffherbicide | 8 |
| III. | Problemstellung | 11 |
| IV. | Eigenschaften der geprüften Verbindungen | 13 |
| | 1. Chlorierte Phenoxyessigsäuren | 13 |
| | a) Chemische und physikalische Eigenschaften | 13 |
| | b) Anwendung | 16 |
| | c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel | 16 |
| | d) Rückstände | 17 |
| | e) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch | 18 |
| | 2. Dalapon | 24 |
| | a) Chemische und physikalische Eigenschaften | 24 |
| | b) Anwendung | 24 |
| | c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel | 25 |
| | d) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch | 25 |
| | 3. Trichloressigsäure | 26 |
| | a) Chemische und physikalische Eigenschaften | 26 |
| | b) Anwendung | 26 |
| | c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel | 26 |
| | d) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch | 27 |
| | 4. Herbicide Carbamate | 27 |
| | a) Chemische und physikalische Eigenschaften | 27 |
| | b) Anwendung | 29 |
| | c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel | 29 |
| | d) Rückstände | 30 |
| | e) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch | 30 |
| | 5. Substituierte Harnstoffverbindungen | 31 |
| | a) Chemische und physikalische Eigenschaften | 31 |
| | b) Anwendung | 33 |
| | c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel | 33 |

Seite


d) Rückstände 33
e) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch 33
6. Triazine 35
a) Chemische und physikalische Eigenschaften 35
b) Anwendung 37
c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel 37
d) Rückstände 37
e) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch 37
7. Aminotriazol 38
a) Chemische und physikalische Eigenschaften 38
b) Anwendung 39
c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel 39
d) Rückstände 40
e) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch 40
f) Ausscheidung von Aminotriazol 41
V. Eigene Versuche 42
1. Allgemeines über den biologischen Test 42
2. Erbsen-Hypocotyl-Test 44
a) Kontrollen 46
b) Versuche mit Herbiciden 46
2,4,5-T
MCPB
2,4-DP
MCPA
CMPP
2,4-D
Dalapon
Aminotriazol
TCA
c) Harn gesunder Personen 49
d) Harn nach 2,4-D-Aufnahme 51
3. Kresse-Test 51
a) Kontrollen 54
b) Versuche mit Herbiciden 55
α) Chlorierte Phenoxyessigsäuren 55

Seite

β) Dalapon 62
γ) Trichloressigsäure 63
δ) Herbicide Carbamate 63
ε) Substituierte Harnstoffverbindungen 66
ζ) Triazine 69
η) Aminotriazol 71
c) Untersuchungen mit Mageninhalt und Harn nach 2,4-D-Aufnahme 71
d) Untersuchung von Harnextrakten gesunder Personen 73
e) Untersuchung von normalem Mageninhalt 73
f) Untersuchung von Harn nach Aufnahme von Diuron 74
VI. Diskussion 76
VII. Zusammenfassung 80
VIII. Literaturverzeichnis 82

# Biologischer Nachweis von Herbiciden.

## I. Einleitung

Die chemischen Unkrautbekämpfungsmittel sind unter dem Namen Herbicide zu einem wichtigen Hilfsmittel in der modernen Bodenkultur geworden. Ihr Einsatz erfolgt auf dem Acker und Grünland, im Gartenbau, in Spezial-Kulturen und im Forst, sowie zur Totalvernichtung jeglichen Pflanzenwuchses, z.B. auf Bahndämmen. Während und kurz nach dem 2. Weltkrieg wurden in der Unkrautbekämpfung mit chemischen Mitteln große Fortschritte erzielt, und das Erscheinen immer neuer Mittel läßt erkennen, daß diese Entwicklung noch keineswegs abgeschlossen ist.

Zur Gruppe der Herbicide gehören Verbindungen mit sehr unterschiedlicher chemischer Struktur. Bei der stürmischen Entwicklung auf dem Herbicidsektor können gegenwärtig als brauchbar erkannte Mittel bereits in wenigen Jahren durch andere abgelöst sein. Schließlich bedingen die von den einzelnen Herbiciden im Laufe der Jahre ausgehenden selektiven Wirkungen auf die Unkrautflora einen Wechsel der Mittel. Produktion und Verbrauch dieser Mittel sind in den letzten Jahren um ein Vielfaches gestiegen.

Kurth gibt folgende Einteilung für chemische Unkrautbekämpfungsmittel:

A. Selektive Herbidide

a) Schwermetallsalze (Fe und Cu) und Schwefelsäure

b) Substituierte Phenoxyessigsäuren

Substituierte Phenoxybuttersäuren
Substituierte Phenoxypropionsäuren
Trichlorbenzoesäure (2,3,6 TBA)
Substituierte Phenoxyäthyl- sulfate und -benzoat

c) Herbicide ohne Wuchsstoffcharakter

Pentachlorphenol (PCP)
4,6-Dinitro-o-kresol (DNC)
4,6-Dinitro-2-sek.-butyl-phenol (DNBP)
Mineralöle
Karbolineen
Carbamate
O-Isopropyl-phenyl-carbamat (IPC)
O-Isopropyl-3-chlorphenyl-carbamat (CIPC)
S-Äthyl-di-propylthiocarbamat (EPTC)
Natrium-N-methyl-dithiocarbamat Dihydrat (Vapam oder SMDC)
Kaliumcyanat (KOCN)
Trichlormethylthiocyanat
Triazin-Derivate
N-substituierte Chloracetamide (CDAA, CDEA)
N.N-Dimethyl-N'-(4-chlorphenyl)-harnstoff (CMU oder Monuron)
Monochloressigsäure (SMCA)
N.N'-Maleinyl-hydrazin (MH)
Na-3,6-endoxo-hexahydrophthalat (Endothal)
N-(Naphthyl-(1))-phthalamidsäure (Analap-1)
Natriumisopropyl-xanthat (NIX)
Phenyl-quecksilber-acetat (PMAS)

B. Total oder allgemein wirkende Herbicide

Chlorate
Arsenate und Arsenite
Borverbindungen
Trichloressigsäure (TCA)
$\alpha,\alpha$-Dichlor-propionsäure (Dalapon)
$\alpha,\alpha,\beta$-Trichlor-propionsäure (TCP)
N,N-Dimethyl-N'-(4-chlor-phenyl)-harnstoff (CMU)
N,N-Dimethyl-N'-(3,4-dichlor-phenyl)-harnstoff (3,4-DDU)
N,N-Dimethyl-N'-phenyl-harnstoff (PDU)
Dichloralharnstoff (DCU)
3-Amino-1,2,4-triazol (ATA)
Ammate (Ammoniumsulfamat)
Rhodanide

## II. Geschichte des Auxins und Entwicklung der Wuchstoffherbicide

Die Vernichtung des Pflanzenwuchses durch Schwermetallsalze und Schwefelsäure ist schon lange bekannt. Das Ergebnis einer solchen Unkrautbekämpfung ist, abgesehen von besonderen Situationen, wie z.B. der Säuberung von Bahndämmen, unbefriedigend.

Selektiv wirkende Herbicide sind in ihrer Anwendung vorteilhafter. Zu ihrer Entwicklung führte ein langer Weg, dessen Ausgangspunkt bei Versuchen von Darwin und Beyerinck im Jahre 1888 liegt. Die beiden Forscher kamen dadurch zum ersten Mal auf den Gedanken, daß die Pflanze wuchsstoffartige Substanzen bilden könne. Es dauerte jedoch noch bis zu den 20iger Jahren des 20. Jahrhunderts, als auch die Vitamin- und Hormonforschung einen großen Aufschwung nahm, bis man der Pflanze wirklich ein kompliziertes Hormonsystem zutraute.

Haberlandt stellte 1913 die erste pflanzliche Hormontheorie auf. Seubert fand 1924 bzw. 1925, daß Koleoptilenpreßsaft, Diastase, Agar und Speichel wachstumshemmend wirkten. Bei einseitiger Darbietung bewirkten sie eine negative Krümmung der Versuchspflanzen. Außerdem fand sie, daß auch viele chemische Verbindungen wie pflanzliche Wuchshormone wirken konnten.

Paál machte 1918 die ersten Experimente mit Haferkoleoptilen ohne Primärblatt. Went wandelte diese Versuchsanordnung ab und beschrieb 1928 seinen berühmt gewordenen Versuch mit der abgeschnittenen Haferkoleoptile: Er stellte abgeschnittene Koleoptilenspitzen auf Agarwürfel, wobei der Wuchsstoff in die Würfel hineindiffundierte. Die hormonhaltigen Agarwürfel setzte er auf die eine Hälfte der Schnittfläche dekapitierter Koleoptilen. Das Hormon diffundierte in die Koleoptile und führte zu einem vermehrten Wachstum auf der betreffenden Seite, so daß die Stümpfe sich krümmten. Aus der Größe der Krümmung konnte man auf die Wuchsstoffmenge schließen.

Die Suche nach der Natur des Wachstumhormons wurde von vielen Seiten aufgenommen. Zu Anfang der 30iger Jahre isolierte Kögl unter Mitarbeit insbesondere von Erxleben und Haagen-Smit aus Harn, Maiskeimöl und Malz Verbindungen, die sie Auxin a, bzw. Auxin b nannten. Auxin a wurde aus menschlichem Harn über komplizierte Extraktions- und Reinigungsverfahren in reiner Form dargestellt. Für beide Verbindungen konnte das Molekulargewicht festgelegt werden. Die beiden Substanzen wurden durch Alkali zerstört.

Im Anschluß daran wurde eine dritte Verbindung gefunden, die die Entdecker Heteroauxin nannten. Weitere Untersuchungen führten zu der Erkenntnis, daß es sich hierbei um die ß-Indolessigsäure (IAA) handelte, die den Chemikern schon lange bekannt war, aber nie in Zusammenhang mit biologischen Funktionen gebracht worden war. 1934 fand Went, daß die Auxine auch fähig sind, das Wurzelwachstum zu beeinflussen.

Systematisch suchte man jetzt nach ähnlichen Verbindungen. Zimmermann und Wilcoxon stellten 1935 fest, daß die $\alpha$-Naphthylessigsäure und andere chlorierte Phenoxyessigsäuren sehr starke Auxinwirkung besitzen. Die Wirkung besonders von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure war um ein Vielfaches größer, als die der vorher gefundenen Stoffe.

1937 beobachteten Höfner und Nagao, daß bestimmte Konzentrationen von IAA das Wachstum von Haferspitzen förderten, das Wachstum der Kornrade dagegen hemmten. Damit war der Weg gewiesen für eine moderne, selektive Unkrautbekämpfung.

Nun setzten systematische Untersuchungen zur Aufklärung der Beziehung zwischen chemischer Struktur und herbicider Wirkung ein. Went und Thimann (1937) stellten fest, daß die Auxinwirkung einer Verbindung von folgenden Faktoren abhängig ist:

1. Länge der Seitenkette
2. Natur und Grad der Substitution in Kern und Seitenkette

3. Grundstruktur des Kerns.

Köpfli (1938) erweiterte die Bedingungen und fand, daß folgende Kriterien vorhanden sein mußten:

1. Ringsystem als Kern
2. Doppelbindung im Ring
3. Seitenkette mit COOH-Gruppe
4. Ein C-Atom zwischen Ring und COOH-Gruppe in der Kette
5. Eine bestimmte räumliche Anordnung zwischen Ringsystem und COOH-Gruppe.

Bis auf Ausnahmen sind diese Bedingungen auch heute noch gültig.

Im 2. Weltkrieg wurden die Eigenschaften von Phenoxyessigsäure-Derivaten in den USA und England sehr sorgfältig studiert. Das Ergebnis dieser Untersuchungen wurde aber erst nach 1945 bekannt gegeben. So hatten Slade und Mitarbeiter festgestellt, daß $\alpha$-Naphthylessigsäure (NAA) den gelben Ackersenf in einem Haferfeld vernichtet, während der Hafer völlig unbeeinträchtigt blieb. Damit war NAA nicht einfach ein Totalherbicid wie z.B. Schwefelsäure und Schwermetallsalze, sondern sie wirkte selektiv. Zimmermann und Hitchcook berichteten 1942, daß auch einige chlorierte Phenoxyessigsäuren außerordentlich wirksame selektive Unkrautvertilgungsmittel waren.

Auf Grund dieser Entdeckung wurde unter Leitung von Sexton eine große Anzahl verschiedener chemischer Verbindungen hergestellt, die Templeman 1941 prüfte. Dabei stellte sich heraus, daß die 4-Chlor-2-methyl-phenoxyessigsäure (MCPA) die Keimung und die ersten Entwicklungsstadien der Melde, des Ackerhahnenfußes, des Klatschmohns, des Spörgels und der Wucherblume in Konzentrationen hemmte, die auf das Getreide kaum wirkten. Mit dem Natrium-Salz dieser Säure konnte man die Keimung des Ackersenfes verhindern und ihn in jedem Ent-

wicklungsstadium bis zur Blüte vernichten.

Seit der Entdeckung der ersten Wuchsstoffherbicide ist die Forschung weitergegangen. Hierbei wurden noch viele andere Substanzen gefunden, die zur selektiven Unkrautbekämpfung angewandt werden können. Ihre Giftigkeit für bestimmte Pflanzen ist von Art zu Art verschieden. Deshalb ist es nicht möglich, für alle Zwecke, z.B. für Ackerbau, Gartenbau und Forstwirtschaft ein einziges Herbicid anzuwenden. Jede Pflanzenkultur verlangt praktisch ein eigenes Herbicid mit der nötigen Selektivität, kombiniert mit einem Minimum an Giftigkeit für die jeweilige Kulturpflanze. Diese Entwicklung ist noch nicht zum Abschluß gekommen.

## III. Problemstellung

Die meisten organischen Herbicide wurden bisher als für den Menschen völlig ungiftig angesehen. In den letzten Jahren sind in zunehmenden Maße Vergiftungen durch Herbicide, speziell Wuchsstoffherbicide bekannt geworden.

Da diese Verbindungen leicht zugänglich sind, ist die Wahrscheinlichkeit groß, daß sie zu Vergiftungen führen werden. Damit gewinnen diese Wirkstoffe forensisches Interesse,und der toxikologisch arbeitende Chemiker wird vor die Aufgabe gestellt, eine Vergiftung mit Herbiciden zu erkennen. Dies ist bei den bereits erwähnten großen Unterschieden in der chemischen Struktur und bei den sehr unvollständigen Kenntnissen über Wirkungsweise, Symptomatologie, Verhalten im Stoffwechsel, sowie Nachweisverfahren nach Aufnahme durch den Menschen ein schwieriges Problem. Sehr viel besser untersucht als die Herbicide sind in der Gruppe der Schädlingsbekämpfungsmittel die Insekticide. Auch hier war das gleiche Problem gegeben: der Nachweis von Verbindungen mit sehr unterschiedlicher chemischer Struktur, die lediglich darin übereinstimmen, daß sie insekticide Wirkung besaßen. Dies führte auf dem Sektor der Insekticide zur Entwicklung eines

"Biologischen Tests", der mit gewissen Einschränkungen erlaubt, alle Insekticide noch in sehr geringer Menge und sehr spezifisch nachzuweisen. Man kann hierzu eine große Anzahl von Testtieren verwenden, z.B. die Hausfliege, die Bananenfliege, Insektenlarven usw., die leicht zu züchten sind. Man läßt in einem weitgehend geschlossenem System (Petrischalen) die zu untersuchenden Verbindungen oder das Material, in dem man auf Insekticide prüfen will, z.B. Mageninhalt, einwirken. Die Anwesenheit eines Insekticids macht sich im Allgemeinen durch den Tod der Versuchstiere innerhalb einer bestimmten Beobachtungszeit bemerkbar.

Die Brauchbarkeit dieses Testverfahrens legte den Gedanken nahe, auch zum Nachweis der großen Gruppe der Herbicide einen biologischen Test zu entwickeln, der sinngemäß auf der Schädigung des Erfolgsorganismus von Herbiciden, nämlich von Pflanzen, bzw. Pflanzenorganen, wie z.B. Wurzeln, Keimen etc. beruhen könnte.

In der Literatur sind nur wenig Anhaltspunkte für ein solches Vorgehen zu finden.

Die bevorzugten Testpflanzen der Botaniker und anderer Forscher waren neben Hafer noch Erbsen, Bohnen, Sojabohnen, Wasserlinsen, Kresse und Sonnenblumen.

Die Testverfahren sind so angelegt, daß die Keime sich erst ein paar Tage normal entwickeln können, und dann erst das zu untersuchende Herbicid an die Pflanze gegeben wird. Auch werden schon vollentwickelte Pflanzen mit den einzelnen Verbindungen in Berührung gebracht. Die Testversuche dauern dann eine längere Zeit. Meist wurden nur einzelne Herbicidgruppen in den biologischen Testverfahren geprüft. Die Untersuchungsverfahren sind im allgemeinen sehr kompliziert und erfordern spezielle Meßapparaturen.

Unser Ziel war, einen Test zu finden, der schnell und einfach und für möglichst viele Herbicidklassen brauchbar sein sollte.

## IV. Eigenschaften der geprüften Verbindungen

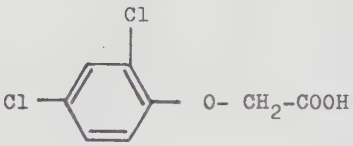
Aus der großen Anzahl der auf Seite 6 und 7 genannten Herbicide wurden die folgenden für die Ausarbeitung eines biologischen Tests verwendet (Einteilung in Anlehnung an Klimmer):

### 1. Chlorierte Phenoxyessigsäuren

Uns standen sechs Vertreter dieser Gruppe in reiner Form zur Verfügung.

a) Chemische und physikalische Eigenschaften:

α) 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D)

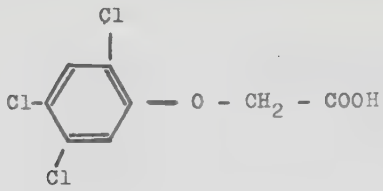



2,4-D ist eine weiße, kristalline Substanz, die stabil und nicht hygroskopisch ist.

Schmelzpunkt 138 - 141°C
Löslichkeit (Gramm 2,4-D in 100 Gramm Lösungsmittel bei 25°C nach Kaufmann (1954):

| | |
|---|---|
| Wasser | 0,089 |
| Äthanol | 129,9 |
| Äthyläther | 24,34 |
| n-Heptan | 0,111 |
| Toluol | 0,67 |
| Xylol | 0,58 |

ß) 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (2,4,5-T)



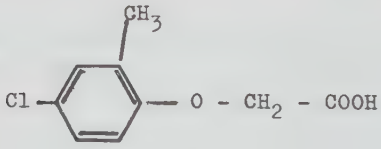
Es handelt sich um farblose Kristalle.

Schmelzpunkt 153°C (Pokorny, 1941); bzw. 154-155°C (Synderholm und Zimmermann 1945).

Löslichkeit (Gramm 2,4,5-T in 100 g Lösungsmittel bei 25°C); Kaufmann 1954:

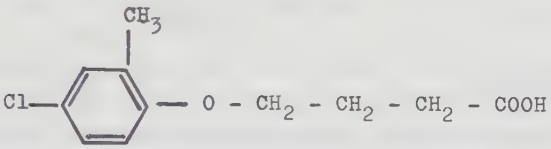
| | |
|---|---|
| Wasser | 0,0278 |
| Methanol | 49,60 |
| Äthanol | 54,82 |
| Diäthyläther | 23,43 |
| n-Heptan | 0,039 |
| Toluol | 0,732 |
| Xylol | 0,608 |

γ) 2-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure (MCPA)



Es handelt sich um einen bräunlichen, festen Stoff. Die freie Säure ist in Wasser praktisch unlöslich und nicht flüchtig, die Salze sind in Wasser löslich (Klimmer).

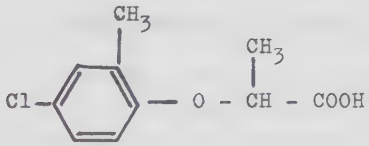
δ) γ-(4-chlor-2-methylphenoxy)-buttersäure (MCPB)



Es handelt sich um einen festen Stoff.

Schmelzpunkt 99-100°C (Klimmer).
MCPB ist in Wasser praktisch unlöslich, in einigen organischen Lösungsmitteln aber gut löslich.

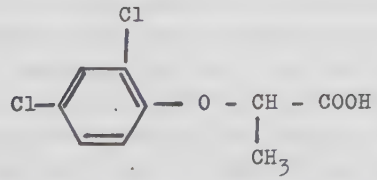
ε) α-(4-Chlor-2-methylphenoxy)-propionsäure (CMPP)



Es handelt sich um farblose Kristalle, die in Wasser unlöslich sind.

Schmelzpunkt 179-181°C (Klimmer)

ζ) α-(2,4-Dichlorphenoxy)-propionsäure (2,4-DP)



Es handelt sich um farblose Kristalle, die in Wasser praktisch unlöslich, in organischen Lösungsmitteln löslich sind.

Schmelzpunkt 117,5 - 118,1°C (Klimmer).

b) Anwendung

Die Präparate nehmen zahlenmäßig in den amtlichen Pflanzenschutzmittelverzeichnissen der einzelnen Länder den ersten Platz ein. Die Phenoxyessigsäuren werden als Natrium-, Kalium-und Aminsalze oder als Ester hergestellt, damit eine gute Löslichkeit und damit gute Applikationsfähigkeit gegeben ist. Um eine möglichst große Wirkungsbreite zu erzielen, werden diese Stoffe auch in Kombinationspräparaten geliefert.

Die Wuchsstoffherbicide werden hauptsächlich in Getreidefeldern angewandt, um dort die dikotylen Unkräuter zu beseitigen.

c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel

Die chlorierten Phenoxyessigsäuren gehören zu den Wuchsstoffherbiciden. Hierunter versteht man Stoffe, die eine Verlängerung im Sproßgewebe einer Pflanze verursachen und damit eine ähnliche Wirkung wie die IAA haben. Sie regen die Pflanze zu einem übermäßigen, unkontrolliertem Wachstum an. Es entwickeln sich Mißbildungen und Nahrungsmangel, so daß die Pflanze abstirbt. Synderholm und Zimmermann (1947) vermuteten, daß die Seitenkette der 2,4-D-Homologen $C_6H_3Cl_2O(CH_2)_n$ COOH nach dem Prinzip der ß-Oxydation abgebaut werden. Dies konnte Wain im Gewebe der Tomatenpflanze sehr wahrscheinlich machen. Hieraus läßt sich schließen, daß es spezifische, in ß-Stellung oxydierende Enzymsysteme in der Pflanze gibt, die imstande sind, die geradzahlige Seitenkette einer bestimmten ω-Phenoxyfettsäure abzubauen, und daß diese Enzymsysteme im Gewebe der einen Pflanzenart vorhanden, im Gewebe einer anderen dagegen nicht vorhanden sind. Darauf ist es zurückzuführen, daß in einigen Pflanzen aus den Phenoxyfettsäure-Derivaten mit geradzahliger Seitenkette das hochwirksame Essigsäure-Derivat ent-

steht, das auf Grund seiner herbiciden Wirkung diese Pflanze vernichtet, während eine andere Pflanzenart, die das spezifische Enzymsystem nicht besitzt, bei gleicher Behandlung unangegriffen bleibt. Neuere Untersuchungen (Zusammenstellung bei Faulkner und Woodcock 1964) haben ergeben, daß auch andere Umwandlungen möglich sind. So bildet Aspergillus niger als Hauptmetaboliten 2,4-Dichlor-5-Hydroxy-phenoxyessigsäure, daneben in geringeren Mengen 2,5-Dichlor-4-Hydroxy-phenoxyessigsäure, wobei die Chlorverschiebung interessant ist.

MCPA wird durch Aspergillus niger teilweise in 4-Chlor-5-Hydroxy-methyl-phenoxyessigsäure umgewandelt. Thomas, Lougham und Powell (1964) stellten in Phaseolus vulgaris einen Abbau von 2,4-D zu Glykosiden der 2,5-Dichlor-4-hydroxy-phenoxyessigsäure sowie 2,3-Dichlor-4-hydroxyessigsäure fest, während Avena sativa hauptsächlich 1-O-(2,4-dichlorphenoxyacetyl)ß-D-Glucose bildet. Crosby (1964) konnte durch mikrocoulometrische Gaschromatographie Metaboliten von 2,4-D in Bohnen nachweisen.

d) Rückstände

Die Wuchsstoffherbicide werden im Boden ziemlich schnell durch Bakterien abgebaut. Nach Aly und Faust (1964) vernichten bestimmte Bakterien in Gewässern bis zu 85 % der zugeführten 2,4-D innerhalb von 24 Stunden unter Zerstörung des aromatischen Kernes (s. auch Freed und Montgomery).

Mac Rae und Alexander (1965) fanden bei Untersuchung des bakteriellen Abbaus von verschiedenen Herbiciden im Boden, daß Bakterien die für den Abbau von 2,4-D verantwortlich sind, 2,4,5-T und MCPA nicht abbauen können.

e) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch

Orale Toxizität (nach Klimmer)

| Präparat | $LD_{50}$ Ratte | $LD_{50}$ Kaninchen | $LD_{50}$ Hund |
|---|---|---|---|
| 2,4-D | 1200 mg/kg | 800 mg/kg | 100 mg/kg |
| 2,4,5-T | 500 - 800 mg/kg | | |
| MCPA | 700 - 900 mg/kg | | |
| MCPB | 700 -1500 mg/kg | | |
| CMPP | 700 -1500 mg/kg | | |
| 2,4-DP | 800 mg/kg | | |

Auf Grund der angegebenen Dosen bestand bisher die Ansicht, daß die Wuchsstoffherbicide für Mensch und Tier weitgehend ungiftig seien, zumindest in den üblichen Anwendungsdosen.

Mitchell, Hodgson und Gaetjens beobachteten 1946, daß Kühe und Schafe vollkommen gesund blieben, wenn sie auf Weiden grasten, die mit 2,4-D behandelt waren. Halliday und Templeman machten 1951 einen Fütterungsversuch über 106 Tage mit einer Kuh. Täglich bekam das Tier eine 2,4-D-Dosis von 5,5 g. Nach dem Versuch konnte in der Milch kein 2,4-D festgestellt werden, aber im Blut fand man 8 p.p.m. 2,4-D.

In Selbstversuchen wurden 500 mg 2,4-D für 3 Wochen täglich aufgenommen, ohne daß pathologische Befunde auftraten (Assouly; Mitchell, Hodgson und Gaetjens (1946)).

Die parenterale und orale Gabe von toxischen Dosen von 2,4-D bei Versuchstieren ergab einen charakteristischen Komplex von Symptomen, die besonders an Hunden studiert wurden (Bucher (1946), Drill und Hiratzka (1953), Hill und Carlisle (1947)):

Nach einigen Stunden stellte man bei den Hunden eine auffallende Bewegungsarmut fest. Es bildete sich das Bild einer Myotonie mit Rigor der Skelettmuskeln und Ataxie aus. In schweren Fällen wurden die Tiere apathisch, die Hinterbeine wurden steif. Schließlich traten klonische Krämpfe auf. Der Tod erfolgte im Coma.

Weiter wurden beobachtet: Nasenbluten, Blutungen aus dem Maul und Blut im Stuhl, sowie Erbrechen.

2,4,5-T machte ähnliche Erscheinungen, besonders Ataxie und Steifheit der Hinterbeine (Drill und Hiratzka (1953)).

Kuhn und Stein (1965) berichten von der Wirkung der 2,4-D in myotonieerzeugender Dosis auf die Calciumaufnahme der Vesikel des endoplasmatischen Reticulums im Skelettmuskel. Sie konnten zeigen, daß die 2,4-D-Konzentrationen, die in vivo Myotonie erzeugten, bei Versuchen in vitro die Calciumaufnahmegeschwindigkeit in die Vesikel verlangsamen.

Heene (1966) konnte histochemisch die Phosphorylasenhemmung durch 2,4-D in Skelettmuskel und Leber der Ratte nachweisen. Auf die Strukturverwandtschaft von 2,4-D und p-Chlormercuribenzoesäure, einem Phosphorylasen-Hemmstoff, wird aufmerksam gemacht. Es wird daran gedacht, daß die Wirkung von 2,4-D auf das Pflanzenwachstum und die Kontraktilität des quergestreiften Muskels auf einer starken Verminderung der Phosphorylasenaktivität beruhen könnte.

Phillips (1964) untersuchte den Stoffwechsel des Carotins und Vitamins A nach Aufnahme von MCPA. Phillips und Hidiroglou (1965) nehmen einen Einfluß von DDT und MCPA auf den Metabolismus von Carotinoiden und Vitamin A an.

In den letzten Jahren sind mehrere Vergiftungen beim Menschen bekannt geworden: 1959 berichten Goldstein, Jones und Brown über drei Fälle von peripherer Neuropathie nach percutaner

Aufnahme eines 2,4-D-Esters. Nach Goldwater ist hier allerdings zu bedenken, daß, bevor 2,4-D für die beobachteten Erscheinungen verantwortlich gemacht werden kann, zunächst noch der Einfluß der Lösungsmittel, Emulgatoren und Beimischungen kommerzieller Präparationen untersucht werden muß.

Berkley und Mager (1963) berichten ebenfalls von Neuropathie infolge von Einwirkung eines Dimethylamin-Salzes von 2,4-D. Seabury berichtete 1963 über Versuche, die er mit verschiedenen Hemmstoffen beim Menschen durchgeführt hat. Sein Interesse war weniger toxicologisch als vielmehr auf evtl. therapeutische Effekte bei schweren Mycosen des Menschen gerichtet:

Ein Patient mit disseminierter Mycose bekam insgesamt 40 mg 2,4-D intramuskulär über 4 Tage zugeführt, ohne daß eine toxische Wirkung beobachtet werden konnte. Ein zweiter moribunder Patient mit gleichem Leiden vertrug 2 g 2,4-D (Natriumsalz) symptomlos. Er erhielt später zusammen mit anderen Heteroauxinen insgesamt 12,7 g 2,4-D-Natrium parenteral (meist intravenös) über 34 Tage ohne merkliche toxische Wirkung. Zwei Tage danach wurden ihm 3,6 g Natrium-2,4-D i.V. gegeben, worauf sich Zeichen einer akuten Giftwirkung (Semistupor, fibrilläre Zuckungen, Hyporeflexie, Harninkontinenz) einstellten. Pulsfrequenz und Atmung waren nicht betroffen. Der Patient erholte sich klinisch innerhalb von 48 Stunden, wobei er anfänglich eine leichte Desorientiertheit zeigte, und starb 14 Tage nach der letzten 2,4-D-Gabe an seinem Grundleiden. Bei der 4 1/2 Stunden nach dem Exitus durchgeführten Sektion wurden keine Veränderungen gefunden, die auf eine Vergiftung mit 2,4-D hätten zurückgeführt werden können.

Die erste tödliche Vergiftung mit 2,4-D beim Menschen beobachtete Nielsen 1961:

Ein junger Mann hatte in suicidaler Absicht etwa 6,5 g 2,4-D aufgenommen. Der Zustand der aufgefundenen Leiche sprach für heftige Krämpfe vor dem Todeseintritt. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen waren uncharakteristisch

es bestand lediglich eine Hyperämie der Lunge, Leber und des Gehirns. Erst zwei Jahre später konnten Nielsen und Mitarbeiter auch den Gehalt von 2,4-D in den verschiedenen Organen nachweisen. Der Gehalt des Giftes wurde im Blut, Urin und den anderen Organen bestimmt. Im Gehirn fand man die niedrigste Konzentration von 2,4-D, sie betrug weniger als 1/50 der Blutkonzentration. Histologisch wurde eine degenerative Veränderung der Ganglienzellen im Gehirn festgestellt.

| Organ | Gesamtgewicht des Organs | | Gewicht d.Probe | γ 2,4-D pro g des Organs | mg % |
|---|---|---|---|---|---|
| Muskel | 32,2 | kg | 20 g | 70 | 7,0 |
| Milz | 130,0 | g | 20 g | 134 | 13,4 |
| Leber | 1610,0 | g | 20 g | 183 | 18,3 |
| Blut | 4,1 | kg | 10 ml | 669 | 66,9 |
| Nieren | 270,0 | g | 20 g | 63 | 6,3 |
| Gehirn | 1360 | g | 40 g | 12,5 | 1,25 |
| Harn | 112 | ml | 10 ml | 264 | 26,4 |

Die Werte wurden durch die spektrophotometrische Methode gefunden.

Eine weitere tödliche Vergiftung mit 2,4-D beim Menschen haben Herbich und Machata (1963) beschrieben:

Ein 46 jähriger Landwirt hatte mindestens 13,5 g 2,4-D aufgenommen. Er litt sehr bald unter einem übermäßigen Durstgefühl. Nach 45 min. stellte sich ein steifer stelziger Gang, nach 60 min. Erbrechen ein; dann begann auch bereits die narkotische Wirkung. Nach 90 min. befand sich der Mann in einem tief narkotischen Zustand. Der Exitus trat 14 Stunden später unter den Zeichen einer Atemlähmung ein. Pathologisch-anatomisch fielen wieder Hyperämie und Ödem des Gehirns sowie ein Lungenödem auf.

Zwei weitere Vergiftungsfälle mit 2,4-D allein, sowie mit einem Kombinationspräparat, das 2,4-D und MCPA enthielt, veröffentlichten Geldmacher-v.Mallinckrodt und Lautenbach (1965). Die Initialsymptome dieser Vergiftungen waren Erbrechen und Bewußtlosigkeit. Kreislauf und Reflexe zeigten anfangs keine pathologischen Befunde. Die Überlebenszeit betrug in einem Fall mehrere Tage; sie ist offenbar abhängig von der aufgenommenen Giftmenge. Der Tod trat durch akutes Kreislaufversagen ein.

Danach hat die akute tödliche Vergiftung beim Menschen, worauf schon Herbich und Machata aufmerksam machen, große Ähnlichkeit mit Vergiftungen nach peroraler Aufnahme narkotisch wirkender chlorierter Kohlenwasserstoffe. Ein myotonieähnliches Bild wie beim Tier wurde in den erwähnten Fällen nicht beobachtet. Bei dem pathologisch-anatomischen Befund fiel auf, daß eine Hyperämie der inneren Organe und ein Ödem von Lunge und Gehirn vorlag. Dies entspricht dem Befund bei Tierversuchen.

Im Urin wurden neben weitgehend unverändertem 2,4-D auch Verbindungen gefunden, bei denen es sich um Metaboliten handeln könnte.

Phenoxyessigsäure-Konzentrationen in mg %

| Organ | Herbich u. Machata (2,4-D) | Geldmacher-v.Mallinckrodt u. Lautenbach 1.Fall (2,4-D) | 2.Fall (2,4-D+ MCPA) |
|---|---|---|---|
| Blut | 47,7 | 2,3 | 4,2 |
| Harn | 61,7 | 16,4 | 42,0 |
| Gehirn | 6,2 | 10,0 | - |
| Leber ) | 11,3 | 11,6 | 10,0 |
| Niere ) | | | Spur |
| Lunge | | 8,8 | |
| Herz | | 6,3 | |
| Skelettmuskel | | | 4,0 |
| Fett | | | |

Popham und Davies (1964) berichten zum ersten Mal von einer MCPA-Vergiftung:

Im Jahre 1958 wurde ein 32 jähriger Indianer, der an einer Tuberkulose litt, bewußtlos und mit Krämpfen in die Klinik eingeliefert. In der Klinik stellte man die Vermutungsdiagnosen Status epilepticus, Meningitis oder subarachnoidal Blutung. Die entsprechenden klinischen Befunde waren jedoch negativ. Schließlich fand einer der Verwandten ein leeres Fläschchen "Verdone" (MCPA). Der Patient hatte ca. 85 ml davon getrunken. Zwanzig Stunden nach Einlieferung in die Klinik starb er, ohne das Bewußtsein wiedererlangt zu haben.

Bei der Sektion konnte kein typischer Befund erhoben werden. In der Lunge fand man tuberkulöse Herde, in der Leber neben einer venösen Stauung nur unregelmäßige, schwach gelbe Zonen (fettige Degeneration oder frühzeitige Nekrose).

| Organ | Gewicht | Gehalt an MCPA | mg/100 g oder 100 ml |
|---|---|---|---|
| Leber | 1080 g | 0,158 g | 14,6 |
| Gehirn u. Meningen | 1160 g | 0,038 g | 3,27 |
| Magen | | 0,041 g | |
| Magenspülflüssigkeit | | 0,3 g | |
| Harn | | 0,097 g | |
| Herz | | 0,037 g | 15,4 |
| Blut | | | 23 |

Von einer weiteren MCPA-Vergiftung berichten Johnson und Koumides (1965):

Ein 65 jähriger Grobschmied mit einer ebenfalls langen Lungenanamnese wurde am 24.Juli 1964 bewußtlos in die Klinik eingeliefert. In suicidaler Absicht hatte er ca. 57 ml von einem Verdone-Fläschchen (MCPA) getrunken. Trotz Therapie starb der

Patient nach 20 1/2 Stunden.

Bei der Sektion wurden auch hier keine Hinweise auf organische Veränderungen gefunden, die mit der Vergiftung im Zusammenhang standen.

MCPA-Gehalt einiger Organe und Körperflüssigkeiten (Methode: Extraktion im sauren Milieu mit Chloroform; quantitative spektrophotometrische Bestimmung bei 280 nm in Methanol):

| Organ | Gehalt an MCPA |
|---|---|
| Blut | 18 mg% |
| Harn | 80 mg% |
| Mageninhalt | 17 mg% |
| Magenspülflüssigkeit | 250 mg% |

2. Dalapon

a) chemische und physikalische Eigenschaften

Natrium-dichlorpropionat (Dalapon)
$CH_3 - CCl_2 - COO.Na$

Dalapon ist ein gelbliches, hygroskopisches Pulver.

Schmelzpunkt 195 - 197°C (Zweig)
Löslichkeit: Dalapon ist in Wasser gut löslich, das Natriumsalz in den gebräuchlichen Lösungsmitteln, ausgenommen Alkoholen schlecht löslich:
Äthanol löst 18,5 g/100 g
Methanol löst 82,7g/100 g (Zweig)

b) Anwendung

Dalapon wurde 1954 als herbicides Mittel für Straßen und gewisse andere nichtlandwirtschaftliche Anwendungsbereiche, eingeführt. Seit 1955 wird Dalapon sehr erfolgreich in der Landwirtschaft als wurzelschädigendes Mittel für unerwünschten

Gräserwuchs, in Entwässerungsgräben, an den Rändern von Seen etc. angewandt. Auf feuchten Böden ist die Wirkung besonders gut, aber auf trockenen Böden weist Dalapon ebenfalls eine gute Wirkung auf, ganz besonders wirksam wird der Flughafer (Avena futura) bekämpft.

c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel

Dalapon wird von der Pflanze vorwiegend durch die Blätter aufgenommen und durch das Phloem wurzelwärts transportiert. Bei Aufnahme durch die Wurzeln, was nur in sehr geringem Maße eintritt, wird die Verbindung aufwärts im Xylem transportiert.

Nach einer Woche beginnen die behandelten Blätter zu vergilben, nach 4 Wochen ist die ganze Pflanze abgestorben.

Dalapon hat eine phytotoxische Wirkung. Es soll die Bildung der Panthotensäure, eines Bestandteils der B-Vitamine, verhindern (aus Kurth).

d) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch

Die akute orale $LD_{50}$ für Dalapon beträgt für verschiedene kleine Tiere zwischen 4000-9000 mg/kg (Ratte, Maus, Meerschweinchen, Kaninchen und Hühnchen) (Paynter, Tusing, Mc.Collister und Rowe 1960).

Zwei junge Kühe überlebten eine Gabe von 1000 mg/kg täglich für 10 Tage. Mit Ausnahme eines Tieres zeigten sich keine toxischen Zeichen bei der klinischen und pathologischen Untersuchung. Nach Fütterungsversuchen an Hunden mit täglich 15,50 und 100 mg/kg während eines Jahres ergaben sich ebenfalls keine wesentlichen pathologischen Befunde. Die Leberteste waren normal. Bei Gaben von 100 mg/kg wurde lediglich ein Anstieg des Nierengewichtes bemerkt.

Bei Gewebeuntersuchungen der Hunde ergab sich, daß 78 p.p.m. Dalapon im Nieren- und Lebergewebe zu finden waren (Paynter, Tusing, Mc.Collister und Rowe (1960)).

Zehntägige Hautbepinselung bei Kaninchen mit einer 10%igen wässrigen Lösung Dalapon führte nur zu einer leichten Hautreizung (Paynter, Tusing, Mc.Collister und Rowe (1960)).

Vergiftungsfälle beim Menschen sind noch nicht bekannt geworden, jedoch führte der unverdünnte Stoff (Staub) zu Reizungen der Augen und der Haut (Klimmer).

3. Trichloressigsäure

a) Chemische und physikalische Eigenschaften

Natriumtrichloracetat (TCA)

$CCl_3$ - COO.Na

Die Trichloressigsäure wird in Form ihrer Salze verwendet. TCA ist sehr gut wasserlöslich. Es handelt sich um gelbliche hygroskopische Kristalle.

Schmelzpunkt: 57°C (Klimmer)

b) Anwendung

TCA wird gegen jeglichen Pflanzenwuchs eingesetzt, besonders aber gegen Gräser, gegen die sie bedeutend schneller und intensiver wirkt als das bekannte Gräservernichtungsmittel Dalapon. Die Aufwandmenge ist auch bedeutend niedriger. In niedriger Dosierung kann sie Gräser in Zuckerrüben, Korn und Sojabohnen vernichten.

c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel

Über die Wirkungsweise der TCA ist noch wenig bekannt. Sie ist ein starkes Eiweißfällungsmittel, aber das kann kaum eine Rolle spielen, da die Pflanze TCA leicht über das Wurzelsystem

aufnimmt und in die oberen Teile der Pflanze transportiert. Dort ruft sie drastische Formveränderungen hervor. Viele Veränderungen der Gräser ähneln denen durch 2,4-D. Offenbar wird das Fermentsystem der Pflanze empfindlich gestört, so daß sich Mißbildungen und Verdorren ergeben. TCA ist gegen Monokotylen bedeutend wirksamer, als gegen Dikotylen.

Mayer (1957) wies Einflüsse der TCA auf Plasmasströmung, Atmung und Keimentwicklung nach. Bei der Kresse fand er unter bestimmten Konzentrationsbedingungen, daß das Wurzelwachstum positiv beeinflußt wird, während das Hypocotylwachstum stark gehemmt wird.

d) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch

Die akute orale $LD_{50}$ für TCA beträgt 3320 mg/kg Ratte und 4970mg/kg Maus. Die Versuchstiere kommen dabei in einen narkoseartigen Zustand, der für 36 Stunden anhält, gefolgt von Coma und Tod (Woodard, Lange, Nelson und Calvery (1941)).

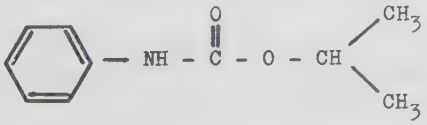
Die Verbindung ätzt Haut und Schleimhäute, so daß bei Aufnahme durch den Mund gastro-intestinale Erscheinungen zu erwarten sind.

4. Herbicide Carbamate

Von den Carbamaten standen uns vier Präparate zur Verfügung.

a) Chemische und physikalische Eigenschaften

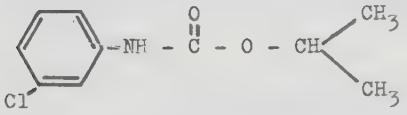
α) N-Phenyl-isopropyl-carbamat (Propham (IPC)).



Es handelt sich um weiße Kristalle.

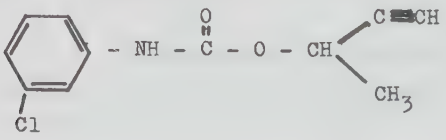
Schmelzpunkt 87 - 88°C
Spez.Gew. bei 20°C: 1,09
Löslichkeit in Wasser bei 20°C: 250 p.p.m.
Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln: in Estern, Alkoholen, Ketonen und chlorierten Lösungsmitteln gut löslich. Begrenzte Löslichkeit in aliphatischen und aromatischen Kohlenwasserstoffen (Zweig).

ß) Isopropyl-N-(3-chlorphenyl)-carbamat (Chlorpropham (CIPC))



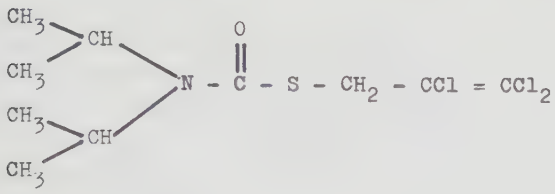
CIPC ist eine kristalline Substanz.
Schmelzpunkt 38 - 40°C
Siedepunkt 247°C (decomp.)
Spez.Gew. bei 30°C: 1,180
Löslichkeit in Wasser bei 25°C: 89 p.p.m.
Löslichkeit in organischen Flüssigkeiten: Löslich in Alkoholen, Kohlenwasserstoffen, chlorierten Kohlenwasserstoffen, Ketonen, Estern und wasserfreiem $NH_3$ (Zweig).

γ) Butynyl-(3-chlorphenyl)-carbamat (BiPC)



Schmelzpunkt 45 - 46°C
Löslichkeit in Wasser bei 20°C: 540 p.p.m.
Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln (g/100 ml (°C)):
Aceton 28,6 bei 20°C
Äthylalkohol 9,5 bei 20°C
Methylalkohol 13,3 bei 20°C (Bailey, White)

δ) 2,3,3-Trichlorallyl-diisopropyl-thiolcarbamat (Triallate)



b) Anwendung

Templeman und Sexton fanden 1945, daß Isopropyl-N-phenyl-carbamat ein sehr wirksamer Grasvernichter ist und empfahlen den Gebrauch als Herbicid. Sie beobachteten, daß Konzentrationen des IPC, die Hafer und andere Ceralien töteten, gegenüber Zuckerrüben, Flachs, Raps und anderen unwirksam waren.

Propham und Chlorpropham sind die wichtigsten Substanzen dieser Gruppe. Auch CIPC wurde als wertvolles Herbicid erkannt. Es besitzt eine bedeutende Wirksamkeit gegen Gräser, wie z.B. die Vogelmiere (stellaria media), die ein äußerst hartnäckiges Unkraut ist. CIPC wird auch in Rüben-, Möhren- und Zwiebelkulturen angewandt, IPC gegen Unkräuter in Gemüse, Stachelbeeren und Spinatkulturen. CIPC ist auch in der Lage, die Auskeimung von gelagerten Kartoffeln zu verhindern (Rhodes 1950). 1951 erkannten Witman und Newton die wesentlich größeren Erfolge bei gleichzeitiger Anwendung von CIPC und IPC.

c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel

Die Wirkung auf die Pflanze liegt in der Hemmung der Zellteilung (Ennis (1948), Doxey (1949), Ivens und Blackman (1950)).

Es handelt sich um ein Mitosegift, ähnlich dem Colchizin, das die Zellteilung in der Anaphase hemmt. Die jungen Blätter der Gräser drehen sich in einer Zeit von 2 Wochen nach oben, wäh-

rend die Blätter der Dikotylen fleckig werden, vergilben und absterben. Keimende Samen und Keimlinge von Forstpflanzen sind sehr empfindlich.

Ries (1953) vermutet, daß Pflanzenarten, die gegenüber IPC restistent sind, selbst ein Gegengift produzieren, daß die Aktivität des Herbicids stark bremst.

d) Rückstände

CIPC hält sich wesentlich länger im Boden, so daß es dem IPC vorgezogen wird, das nur sehr kurze Zeit im Boden bleibt und wahrscheinlich durch Bakterien abgebaut wird.

e) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch

IPC: Die akute orale $LD_{50}$ beträgt 1000 mg/kg Ratte (Stekhoven, Roskott und Veenhof). Verschiedene Tierversuche haben gezeigt, daß Carbamat-Ester cancerogene Eigenschaften haben. So fand Larsen (1947), daß bei intraperitoneal verabreichtem IPC die Häufigkeit von Lungentumoren in einem Mäusestamm von 17 auf 90% anstieg. Man dachte daran, daß die cancerogene Wirkung des IPC bei der Säure-Hydrolyse entstehen könne, wenn nämlich Anilin abgespalten wird. Hueper (1952) gab über längere Zeit IPC oral, intramuskulär und intrapleural Mäusen und Ratten, fand aber keine krebsfördernde Wirkung. Stekhoven, Roskott und Veenhof machten Fütterungsversuche über längere Zeit mit Dosen von 400, 800 und 1600 p.p.m. bei Ratten. Auch hier wurden keine toxischen Zeichen in Hinblick auf Wachstum, Fertilität und die pathologische Anatomie festgestellt.

CIPC: Die akute orale $LD_{50}$ beträgt 5000 mg/kg für Mäuse und Ratten (Tilemans und Dormal).

Bei Fütterungsversuche mit männlichen Ratten, die 310-20.000 p.p.m. im Futter täglich für 90 Tage bekamen, waren keine Zeichen eines verminderten Wachstums zu erkennen. Bei Gaben über

1250 p.p.m. nahm das Gewicht der Lebern zu, ohne daß histologisch eine Veränderung nachzuweisen war (Westrick, Gross und Schrenk (1954) - Larson, Crawford, Smith, Henningar, Haag und Finegan (1960) machten Fütterungsversuche mit Ratten und Hunden, die ein bzw. zwei Jahre dauerten. Dabei bekamen die Tiere täglich 20.000 p.p.m. CIPC zugeführt. Bei beiden Tierarten gab es Zeichen einer toxischen Wirkung, welche sich durch verzögertes Wachstum und Anstieg der Mortalität der männlichen Tiere auszeichnete. Leber- und Nierengewicht stieg an, ohne daß man histologisch eine Veränderung verifizieren konnte. Bei den Hunden bemerkten die Autoren verzögertes Wachstum, Anstieg des Leber-, Nieren und Milzgewichtes und Milzstauung.

BiPC: Die akute orale $LD_{50}$ beträgt 2,4 g/kg Ratte (Klimmer).

Triallate: Die akute orale $LD_{50}$ beträgt 800-1500 mg/kg Ratte.

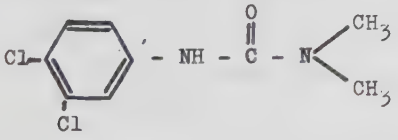
Vergiftungen mit diesen Präparaten beim Menschen sind noch nicht beschrieben worden.

5. Substituierte Harnstoffverbindungen

Von den substituierten Harnstoffen standen uns ebenfalls vier Präparate zur Verfügung.

a) Chemische und physikalische Eigenschaften

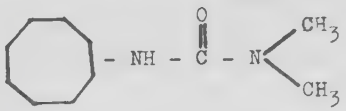
α) N-(3,4-Dichlorphenyl)-N-N-dimethylharnstoff (Diuron)



Diuron ist eine weiße, geruchlose Substanz.

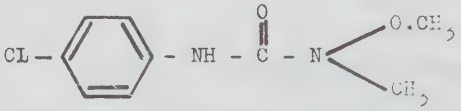
Schmelzpunkt 158 - 159°C
Löslichkeit in Wasser bei normaler Temperatur 42 p.p.m. (Zweig

β) N-Cyclooctyl-N'-N'-dimethylharnstoff (OMU)



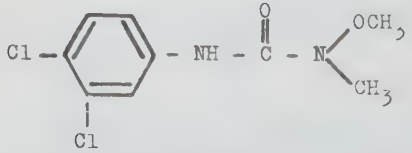
Schmelzpunkt 138°C
Löslichkeit in Wasser bei 20°C: 150 p.p.m.
Löslichkeit in Aceton 4,2 g/100 ml
Methylalkohol 50,0 g/100 ml
Äthylalkohol 28,6 g/100 ml
(Bailey, White)

γ) N-(4-Chlorphenyl)-N'-methoxy-N-methylharnstoff (Monolinuron)



Es handelt sich um ein weißes, geruchloses Pulver, das in Wasser kaum, in organischen Lösungsmitteln gut löslich ist. Der Stoff ist nur gering flüchtig (Klimmer).

δ) N-(3,4-Dichlorphenyl)-N'-methylharnstoff (Linuron)



Linuron ist ein weißes, kristallines, geruchloses Pulver.

Schmelzpunkt 93 - 94°C
Löslichkeit in Wasser bei 25°C: 75 p.p.m.
Löslichkeit in Benzol, Äthylalkohol, Toluol und Xylol
(Klimmer und Bailey, White)

b) Anwendung

Die Harnstoffderivate werden in hohen Dosen zur Totalausrottung der Unkräuter auf Farmwegen, Eisenbahndämmen und Straßenrändern benutzt. Sie können aber auch in wesentlich geringeren Dosen in Kartoffeln, Luzernen und Zuckerrohr-Kulturen angewandt werden. Diuron wird in den USA als Stäubemittel und in wässriger Lösung angewandt. Bei uns steht dieser Stoff noch nicht im Pflanzenschutzmittelverzeichnis 1965, ist aber bereits in einem Mischpräparat im Handel (Ustinex = Diuron und Aminotriazol).

c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel

Über die Wirkungsart dieser Herbicide ist nur sehr wenig bekannt. Freed nahm an, daß sie den Stickstoff-Metabolismus beeinflussen, aber man konnte diese Annahme noch nicht bestätigen. Die Verbindungen werden vom Boden absorbiert und in den Pflanzenspitzen angereichert (Haun, Peterson). Die Pflanze bleibt für einige Tage unbeeinflußt. Dann beginnt sie, von den Blattspitzen angefangen, zu vertrocknen, bis schließlich die ganze Pflanze getötet ist.

d) Rückstände

Das lange Verweilen der Harnstoffderivate im Boden hängt teilweise von dem Lehmgehalt des Bodens ab. Die Verbindungen werden von Bakterien abgebaut.

e) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch

Diuron: Die akute orale $LD_{50}$ für Diuron beträgt 3400 mg/kg Ratte. Du Pont (1954) machte Fütterungsversuche mit 50 p.p.m.

und konnten keine toxischen Zeichen feststellen, während 5000 p.p.m. täglich für 90 Tage zwar nicht den Tod auslösten, aber Gewichtsabnahme, Abnahme der Erythrocytenzahl und pathologische Veränderungen in der Milz bewirkten.

Versuche mit Monuron und Diuron an Meerschweinchen hatten keine Zeichen von Hautallergien ergeben. Auch bei Menschen, die in den Fabriken mit diesen Stoffen in Berührung kamen, wurden keine allergischen Hautreaktionen beobachtet (Du Pont).

Monolinuron: Die akute orale $LD_{50}$ für Monolinuron beträgt 1800-2250 mg/kg Ratte. Die 30malige Verfütterung von 100-500 mg Wirkstoff/kg Ratte führte zu einer leichten bis deutlichen Erniedrigung der Hämoglobin- und Erythrocytenwerte mit Hämosiderinablagerung in Leber, Nieren und Milz, nicht aber zu Methämoglobinbildung oder zu klinischen Vergiftungserscheinungen. Mehrmalige Einatmung über je 1 Stunde von Wirkstoffstaub ergab bei Kaninchen ebenfalls eine Abnahme der Hämoglobin- und Erythrocytenwerte. Wässrige Auszüge des Wirkstoffes führten auf der Haut und im Bindehautsack von Kaninchen zu keinen Reizerscheinungen, ölige Auszüge dagegen zu leichten Reizerscheinungen (Klimmer).

OMU: Die akute orale $LD_{50}$ für OMU beträgt 2600 mg/kg Ratte. Beim Menschen sind noch keine Vergiftungsfälle bekannt geworden. Im Tierversuch ist das Vergiftungsbild uncharakteristisch (Klimmer).

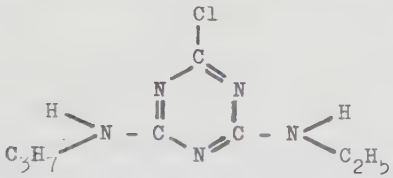
Linuron: Die akute orale $LD_{50}$ für Linuron beträgt 1500-3500 mg/kg Ratte. Die Wirkung dieses Stoffes entspricht der des Monolinuron.

Für uns hat die Verbindung Diuron eine besondere Bedeutung, weil uns ein Fall bekannt wurde, bei dem ein Mischpräparat (Diuron und Aminotriazol) in unbekannter Menge aufgenommen wurde, ohne daß klinische Symptome auftraten. Mit dem nach der Aufnahme gewonnenen Harn führten wir einige Versuche durch (s.S. 74).

6. Triazine

a) Chemische und physikalische Eigenschaften

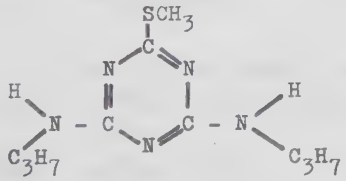
α) 2-Chlor-4-äthylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazin (Atrazin)



Es handelt sich um eine kristalline Substanz, die nicht brennbar, nicht explosiv und nicht ätzend ist.

Schmelzpunkt 173 - 175°C
Löslichkeit in Wasser bei 0°C: 22 p.p.m.
27°C: 70 p.p.m.
85°C: 320 p.p.m.
Löslichkeit in Diäthyläther bei 27°C: 12000 p.p.m.
Methanol bei 27°C: 18000 p.p.m.
n-Pentan bei 27°C: 360 p.p.m.
Chloroform bei 27°C: 52000 p.p.m. (Zweig)

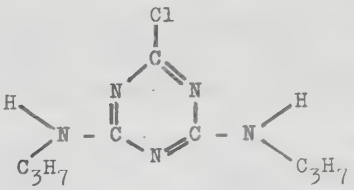
ß) 2-Methylmercapto-4,6-bis-isopropylamino-1,3,5-triazin (Prometryn)



Es handelt sich um eine farblose, kristalline Substanz, die nicht brennbar, nicht explosiv und nicht ätzend ist.

Schmelzpunkt 118 - 120°C
Löslichkeit in Wasser bei 20°C: 48 p.p.m.
Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln gut (Zweig).

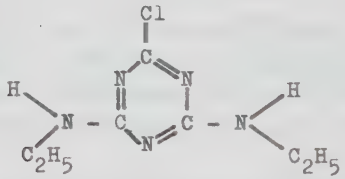
e) 2-Chlor-4,6-bis-(isopropylamino)-1,3,5-triazin (Propazin)



Propazin besteht aus farblosen Kristallen, die nicht brennbar und nicht ätzend sind.

Schmelzpunkt 212 - 214°C
Löslichkeit in Wasser bei 20°C: 8,6 p.p.m.
Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln sehr gering (Zweig).

f) 2-Chlor-4,6-bis-(äthylamino)-1,3,5-triazin (Simazin)



Simazin ist farblos, nicht brennbar, nicht explosiv und nicht ätzend.

Schmelzpunkt 225 - 227°C

| | | | |
|---|---|---|---|
| Löslichkeit in Wasser | 0°C: | 2 | p.p.m. |
| | 20°C: | 5 | p.p.m. |
| | 85°C: | 84 | p.p.m. |
| Methanol | 20°C: | 400 | p.p.m. |
| n-Pentan | 25°C: | 3 | p.p.m. |
| Äthyläther | 25°C: | 300 | p.p.m. |
| Chloroform | 20°C: | 900 | p.p.m. |

(Zweig)

b) Anwendung

Die symmetrischen Triazine sind eine neue Klasse von Herbiciden, die einen großen Wirkungskreis haben. Die Stoffe wurden 1952 in der Fa. Geigy A.G., Basel von Gysin und Knüsli entwickelt.

Viele dieser Verbindungen werden als Vorauflaufmittel in Getreide, Wein sowie Spargel und im Ausland für Tee angewandt. Simazin und Atrazin waren die ersten Triazine, die als Herbicide eingeführt wurden und Bedeutung erlangten.

Simazin wird als selektives und totales Herbicid angewandt und zwar in Erbsen- und Spargelkulturen. Besonders wirksam ist es auch gegen den Ackerfuchsschwanz, den Windhalm und die Quecke.

c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel

Die Triazine werden von der Pflanze durch das Wurzelsystem aufgenommen. Die Pflanze hydroxyliert die Triazine, der Ring wird geöffnet, so daß es zur Entgiftung kommt. Die Triazine, stören die Keimung nicht, wirken aber auf die Jungpflanzen. Ihre phytotoxische Wirkung scheint auf der Störung der Photosynthese zu beruhen. Vermutlich ist die Zuckerbildung gestört (Kurth).

d) Rückstände

Die Triazine sind sehr stabile Verbindungen, so daß sie sich sehr lange im Boden halten und nur sehr langsam abgebaut werden.

e) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch

Simazin: Die akute orale $LD_{50}$ für Simazin beträgt 5000 mg/kg Maus, Ratte, Hühnchen, Kaninchen und allen Sorten von Tauben. Die Ratten überlebten tägliche Dosen von 2500 mg/kg reinen Simazins für 4 Wochen und für die selbe Zeit 1250 mg/kg eines Handelspräparates (Geigy).

Ratten bekamen bei Fütterungsversuchen täglich während zwei Jahren 1,10 und 100 p.p.m. Simazin, ohne daß sie Zeichen einer Vergiftung hatten (Grigsby und Farwell).

Atrazin: Die akute orale $LD_{50}$ für Atrazin beträgt 1750 mg/kg Maus und 3080 mg/kg Ratte, während tägliche Dosen von 400 mg/k Ratte während 6 Wochen für die Hälfte der Testratten tödlich verlief (Geigy).

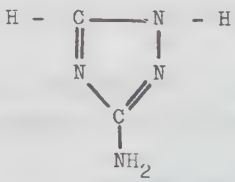
Prometryn: Die akute orale $LD_{50}$ für Prometryn beträgt 3750 mg/kg Ratte und Maus. 90-tägige Fütterungsversuche mit Ratten, die täglich 100 mg/kg Prometryn erhielten, zeigten keine Vergiftungserscheinungen (Zweig).

Propazin: Die akute orale $LD_{50}$ für Propazin beträgt mehr als 5000 mg/kg Ratte und Maus. Fütterungsversuche mit Ratten, die für 180 Tage täglich 500 mg/kg Propazin erhielten, zeigten keine auffallenden Veränderungen gegenüber einer Kontrollgruppe (Zweig).

7. Aminotriazol

a) Chemische und physikalische Eigenschaften

α) 3-Amino-1,2,4-triazol (Aminotriazol)



Es handelt sich um eine weiße, kristalline Substanz.

Schmelzpunkt 150 - 153°C (techn.)

Löslichkeit: Über 28 g in 100 g Wasser bei 23°C; 53 g in 100 g Wasser bei 53°C; 26 g in 100 g Äthanol bei 75°C. Unlöslich in nicht polaren Lösungen (Zweig).

b) Anwendung

Die Synthese von Aminotriazol (AT) wurde schon 1888 von Curtius und Lang beschrieben, aber erst 1955 entdeckten Allen die herbicide und wachstumsbeeinflussende Wirkung.

Das Hauptanwendungsgebiet ist der Obst- und Weinbau. AT wird gegen ganz besonders widerstandsfähige Unkräuter, wie z.B. das Erdmandelgras (Cyperus rotundus), Acker-Kratzdistel (Cirsum arvense) und Gänsedistel (Sonchus) und gegen die Quecke eingesetzt. In den Vereinigten Staaten wird Aminotriazol besonders in Preiselbeerkulturen verwendet, weil diese Pflanze außergewöhnlich resistent gegenüber diesem Herbicid ist.

c) Wirkung auf die Pflanze und Stoffwechsel

Aminotriazol wird nicht in der lebenden Zelle festgehalten, sondern wandert durch die ganze Pflanze im wässrigen Säftestrom und wird in den Koleoptilen abgelagert (Crafts 1957).

AT wird aus dem Boden durch die Wurzeln aufgenommen. Aminotriazol greift in den Enzymstoffwechsel ein. Die Chlorophyllentwicklung, bzw. die Neubildung von Chlorophyll-A-pigment wird gehemmt. Dadurch soll die Fähigkeit des Blattes, Pigment zu bilden, gehemmt sein, so daß es zu einer starken Chlorose kommt und die Pflanze abstirbt. Diese Chlorose wird zuerst an den jungen Blattspitzen sichtbar und an den Stellen, die den höchsten Nahrungsbedarf haben. Versuche mit markiertem AT haben gezeigt, daß es auch zu den Wurzeln transportiert wird.

Der Geotropismus der Pflanze wird ebenfalls aufgehoben. Die Keimwurzeln zeigen zur Seite oder sogar nach oben. Sie bleiben kurz und dick und können keine Nahrung aufnehmen (Counts 1961).

Hilton (1962) beobachtete die Aufhebung der Keimhemmung, wenn man Riboflavin zuführt.

d) Rückstände

Die Aufenthaltsdauer von Aminotriazol im Boden hängt von Temperatur, pH-Wert und Feuchtigkeit ab. In Sandböden hält sich Aminotriazol wesentlich länger, weil dort die Bakterien nicht in so großer Zahl vorhanden sind.

e) Giftigkeit für Warmblüter und Mensch

Die akute orale $LD_{50}$ beträgt für Aminotriazol 14700 mg/kg Maus (Weir, Paynter und Elsera (1958)), 25000 mg/kg Ratte (Shaffer). Keine Vergiftungszeichen wurden bemerkt nach intravenöser Injektion von 1750 mg/kg Katze, 1600 mg/kg Maus (Shaffer), oder 1200 mg/kg Hund (Weir, Paynter und Elsera). Eine einzige intraperitoneale Dosis von 4000 mg/kg Maus wurde toleriert, während 21 mal 1000 mg/kg verteilt über 45 Tage bei Ratten einen Anstieg des Schilddrüsengewichtes um 328% bei männlichen und 410% bei weiblichen Tieren verursachte. Während dieser Zeitwaren Wachstum und Futteraufnahme normal (Shaffer).

Im subakuten Toxizitätsversuch im 1000 und 10.000 p.p.m. AT in der Nahrung bei Ratten wurden nach 63 Tagen ein Zurückbleiben der Gewichtszunahme und fettige Degeneration der Leber festgestellt. Eine deutliche Kropfbildung kann man bei 50 p.p.m. AT im Futter feststellen. Bei Gaben unterhalb dieser Dosis gibt es keine Reaktion (Eggert 1959). Bei Gaben von 100 und 500 p.p.m. werden Wachstumsverzögerung, Schilddrüsenvergrößerung und veränderter Stoffwechsel bemerkt. Neben den erwähnten Erscheinungen fielen besonders ein starker Exophthalmus und eine nicht funktionelle Hyperplasie und toxische Degeneration der Schilddrüse auf. Beim Absetzen von Aminotriazol bildeten sich diese Erscheinungen in kurzer Zeit zurück (Weir, Paynter und Elsera).

Die antithyreoide Wirkung von Aminotriazol scheint große Ähnlichkeit zu haben mit der Wirkung von Thiouracil-Derivaten, so daß sich der Secretary of Health, Education and Welfare gezwungen sah, den Toleranzwert für Restmengen in Lebensmitteln auf 0 p.p.m. festzusetzen.

f) Ausscheidung von Aminotriazol

Fütterungsversuche an weißen Ratten mit $C^{14}$-markiertem Aminotriazol zeigten, daß die Hauptaktivität zu 70 - 90% im Harn auftritt. Im Organismus wird Aminotriazol nur gering oxydiert. Eine Stunde nach Aufnahme befinden sich 0,7% in der Leber. Durch die Chromatographie fand man einen Metaboliten I, der mit fortschreitender Zeit zunimmt, während der unveränderte Ausgangsstoff abnimmt.

Die Ausscheidung von Aminotriazol erfolgt vorwiegend im Urin (Fang, George, Te Chang Yu (1964)).

## V. Eigene Versuche

### 1. Allgemeines über den biologischen Test.

Unsere Kenntnis von den komplizierten physiologischen Vorgängen, die mit der Keimung verbunden sind, ist noch sehr unvollständig. Evenari (1957) unterscheidet vier Phasen der Keimung: Quellung, Aktivierung, Phase der Mitosen und Phase der Wurzelentwicklung.

Nach dieser Definition beginnt die Keimung mit der Aufnahme von Wasser durch den Samen und ist beendet, wenn die Primärwurzel vortreibt. Jede der verschiedenen Keimphasen wird kontrolliert durch bestimmte biochemische Prozesse, die in der verschiedensten Weise durch exogene Faktoren oder wachstumswirksame Substanzen beeinflußt werden können.

Daraus erhellt, daß die Wirkung der verschiedenen Herbicide auf die Keimung ein sehr komplexes Phänomen darstellt, das von vielen unbekannten Faktoren abhängt.

So konnte Evenari (1957) zeigen, daß Licht z.T. die hemmende Wirkung von 2,4-D auf Pflanzen variieren kann, während der hemmende Effekt von Dinitrophenol hiervon unberührt blieb. Mayer und Evenari fanden außerdem einen synergistischen Effekt, wenn 2,4-D und Cumarin-Derivate während der Keimung von Salatsamen gleichzeitig einwirkten.

Es sind also von vornherein gewisse Schwierigkeiten zu erwarten, wenn man Pflanzen zum Nachweis von wachstumsregulierenden oder wachstumshemmenden Substanzen verwendet, da Umwelteinflüsse wie Licht, Temperatur, Feuchtigkeit, die Anwesenheit von anderen Fremdstoffen etc. eine Rolle spielen, und die Antwort der Pflanze hiervorn abhängig sein kann. Daneben hat die Pflanze die Eigenart, auf die verschiedensten Reize ein und dieselbe Antwort in Form einer Wachstumsstörung zu geben, so daß eine spezifische Unterscheidung der verschiedenen chemischen Verbindungen von vornherein unwahrscheinlich war.

Wie schon erwähnt, war neben Paál, Went (1928) der Erste, der einen Biologischen Test entwickelte, um auf Auxine zu prüfen. Die Grundlage seines Versuches war das Arbeiten mit abgeschnittenen Haferkoleoptilen. Je größer das Interesse an wachstumshemmenden Substanzen wurde, desto mehr wuchs auch das Interesse an einfach durchzuführenden biologischen Testverfahren.

Ausgesuchte Gewebestückchen von Pflanzen, insbesondere von Stengeln, wurden häufig verwendet, um den biologischen Effekt oder die Konzentration von Wuchsstoffen zu messen. So benutzte man Weizen- und Erbsen-Hypocotyle und verschiedene Wurzelteile, um die Konzentration von IAA und 2,4-D festzustellen. Hierzu wurden oft die gewählten Organstückchen bei konstanter Temperatur und konstantem pH-Wert in Lösungen der zu prüfenden Verbindungen gehalten. Nach einer bestimmten Zeit wurde z.B. die Zellverlängerung mit einer Mikrometereinrichtung gemessen. Zum Teil verwendete man auch größere Pflanzenteile. So entwickelten die Biologen neben dem Haferkoleoptilen-Krümmungstest auch ein Verfahren, bei dem man das Erbsenepicotyl der Länge nach teilte. Wie im Haferkoleoptilen-Test schloß man aus der Krümmung auf die Konzentration des applizierten Versuchsstoffes.

Die zuletzt genannten, eigentlich für Wuchsstoffe entwickelten Testverfahren wurden in abgewandelter Form von Swanson (1946) für Herbicide übernommen. Swanson arbeitete mit Getreidekeimlingen, die sich in Lösungen mit bekannten Konzentrationen von 2,4-D befanden.

Eliason (1959) arbeitete einen Test aus, in dem er die Wirkung von 2,4-D bei Applikation an Erbsenhypocotylen prüfte. Zwei Jahre später testete er in der gleichen Weise auch andere chlorierte Phenoxyessigsäuren. Als Kriterium verwendete er eine Wachstumshemmung, sowie eine Anschwellung der Wurzel.

Gowing (1959) machte Versuche mit Sojabohnen, Bohnen, Korn und Sonnenblumensamen. Die Samen wurden 40 Stunden zum Quel-

len eingeweicht, und dann in Plastiktöpfe eingesetzt, die mit Erde einer bestimmten Zusammensetzung gefüllt waren. Gowing ließ die Pflanzen sodann 5-7 Tage wachsen. Danach wurden die Blätter in Lösungen oder Suspensionen der zu untersuchenden Herbicide getaucht. Nach 10 Tagen wurden die Pflanzen geerntet und das Frischgewicht der Schößlinge über den Kotyledonen bestimmt. Gowing drückte die auf Grund der Wägung gefundene Wachstumshemmung in Prozent der Kontrollen aus und fand eine Abhängigkeit von der angewandten Herbicidkonzentration. Er testete Herbicide in Reinsubstanz sowie in Gemischen. Hierbei beobachtete er eine synergistische Wirkung bei gleichzeitiger Anwendung von Dalapon und Aminotriazol, einen Antagonismus bei gemeinsamer Anwendung von 2,4-D und Dalapon.

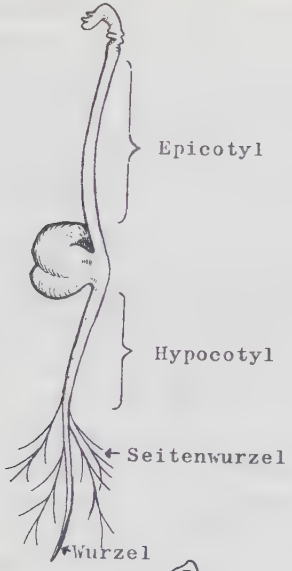
Zur gleichen Zeit machte Audus (1950, 1959) erfolgreiche Versuche mit Kressekeimlingen. Er stellte fest, daß die Gartenkresse eine sehr geeignete und empfindliche Pflanze für die Durchführung eines Biologischen Tests auf Herbicide darstellte: die Anwendung einer 2,4-D-Lösung, die 0,01 ppm enthielt, bewirkte bereits eine gewisse Wachstumshemmung. Bei 1 ppm war das gesamte Wurzelwachstum blockiert. Bei dieser Konzentration fand sich auch eine gewisse Hemmung der Keimung. Eine weitere Zunahme auf 10 ppm unterdrückte die Keimung dieser Spezies vollständig. Bei reifen Pflanzen mußten wesentlich höhere Dosen angewandt werden.

2. Erbsen-Hypocoty-Test

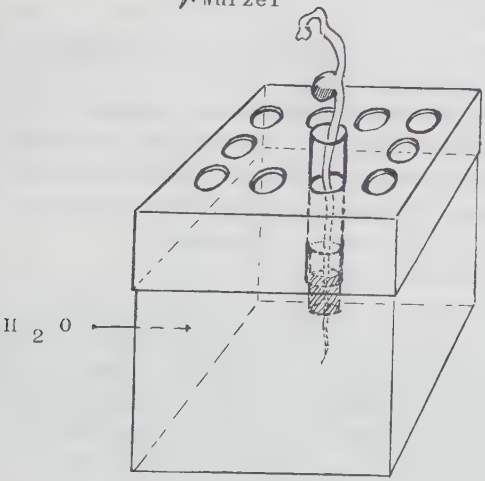
Von den vielen vorgeschlagenen Testverfahren prüften wir zunächst den Erbsen-Hypocotyl-Test auf seine Eignung für den empfindlichen Nachweis einer möglichst großen Anzahl von Herbiciden. Hierzu gingen wir nach Eliason (1959) vor.

Für die Versuche verwendeten wir Erbsen der Sorte "Vorbote 1965". Diese wurden zunächst in einer 0,5%igen Sublimat-Saponinlösung gebeizt, um Sporen zu vernichten.

Erbsen - Skizze




Versuchsanordnung im Hypocotyl - Test




Anordnung der Erbsen in den Kästen

Nach einer Beizzeit von 10 Minuten wurden die Erbsen mit Leitungswasser solange gereinigt bis kein Schaum mehr zu sehen war. Daraufhin wurden je etwa 30 Erbsen in eine Petrischale von 9 cm Durchmesser auf Filtrierpapier gelegt. Anschließend gaben wir mit einer sterilen Spritze 20 ml Wasser dazu. Die Schalen wurden verschlossen und kamen zur Auskeimung in einen Brutschrank mit einer Temperatur von 24°C. Nach 24 Stunden wurden noch einmal ca. 10 ml Wasser in die Schalen gegeben. Nach 72 stündiger Keimung war eine Keimwurzel von 2-3 cm entwickelt. Die Erbsen wurden nun zum Versuch sortiert: Nur Erbsen mit gerader, schlanker Wurzel und einer Wurzelmindestlänge von 25 mm wurden ausgewählt. Zunächst maßen wir die ausgesuchten Keimwurzeln und hielten den Meßwert in einer Tabelle fest. Die ausgesuchten Erbsenkeimwurzeln wurden in kleine Glasröhrchen von 1,3 cm Länge und 0,3 cm Innendurchmesser gesteckt, an deren unteren Ende ein kleines Stückchen Plastikschlauch eingeklebt war. Diese Stelle war vor Einführen der Keimwurzeln durch schabende Bewegungen mit Lanolin verschlossen worden. Auf diese Weise war der Raum zwischen Keimwurzel und Röhrchen fast wasserdicht verschlossen. Nach Einführen der Keimwurzeln wurde diese Stelle zusätzlich mit Adeps lanae gedichtet. Die Glasröhrchen steckten wir in die Deckel von Plastikkästen, die bis zum Rand mit Leitungswasser von Zimmertemperatur gefüllt waren. Hierzu wurden kleine Plastikkästen (5x5x5 cm), die mit gutsitzenden Deckeln versehen waren, gewählt. Die Deckel waren so durchbohrt, daß insgesamt 10 Röhrchen Platz fanden. Falls nötig wurden die Rohrchen mit einem kleinen Stückchen Plastellin festgehalten, damit sie nicht durch den Deckel rutschten.

Nach Beschicken der Kästen mit den Glasröhrchen wurde in jedes Röhrchen 0,02 ml der entsprechenden Testlösungen hineinpipettiert. Die Lösungen waren stets mit Methylenblau angefärbt, um undichte Stellen erkennen zu können. Sodann kamen die Kästen in den Brutschrank (24°C) und verblieben dort

48 Stunden. Hierbei wurde für genügend Feuchtigkeit in der Atmosphäre durch Auslegen von mit Wasser getränktem Filtrierpapier gesorgt.

a) Kontrollen

Da die Versuchsergebnisse in Prozent der Kontrollen ausgedrückt werden sollten, führten wir zunächst Versuche mit hundert Erbsen durch. Diese wurden wie beschrieben behandelt, mit dem Unterschied, daß keine Herbicidlösung in die Röhrchen pipettiert wurde.

Aus der für die 100 Erbsen festgestellten Längenzunahme ergab sich als Mittelwert ein Wachstum von 25 mm in 48 Stunden. Der mittlere Fehler der Einzelmessung wurde nach der Formel

$$e = \sqrt{\frac{\Sigma (\Delta x)^2}{n-1}} \quad \text{zu } 5{,}1$$

ermittelt, der mittlere Fehler des Mittelwertes nach

$$\bar{e} = \frac{e}{\sqrt{n}} \quad \text{zu } 0{,}51.$$

b) Versuche mit Herbiciden

Voraussetzung für die Anwendung des Tests in der beschriebenen Form ist, daß die zu prüfenden Substanzen direkt oder z.B. in Salzform wasserlöslich sind. Dies trifft nur für einige der von S.13 bis S.41 genannten Herbiciden zu.

Wir prüften deshalb die folgenden Verbindungen:

2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (2,4,5,-T)
γ-(4-Chlor-2-methylphenoxy)-buttersäure (MCPB)
α(2,4-Dichlorphenoxy)-propionsäure (2,4-DP)
2-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure (MCPA)
α-(4-Chlor-2-methylphenoxy)-propionsäure (CMPP)
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D)

Natrium-dichlorpropionat (Dalapon)
3-Amino-1,2,4-triazol (Aminotriazol)
Natriumtrichloracetat (TCA)

Von diesen Verbindungen stellte wir Testlösungen her, die in 0,02 ml 2, 10, 20 und 50 γ der jeweiligen Verbindung enthielten. Im übrigen wurden nach der bei den Kontrollen beschriebenen Weise gearbeitet. Für jede Verdünnung wurden je 20 Erbsen eingesetzt. Gelegentlich waren Ausfälle durch Vertrocknen oder Beschädigung der Versuchspflanze zu verzeichnen.

Von der gemessenen Längenzunahme der je 20 Erbsen wurde der Mittelwert gebildet und das Ergebnis als Prozent der Kontrollen ausgedrückt. Bei einigen der so geprüften Verbindungen waren außer Wachstumshemmung auch Anschwellung der Keimwurzeln, wie sie schon Eliason beschrieben hatte, zu beobachten. Dies ist gleichfalls in der nachfolgenden Tabelle angegeben.

| Präparat | Anzahl der Erbsen | γ Herbicid/ Erbse | Längenzunahme der Keimwurzeln in mm | in % d.Kontrolle | Anschwellungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 2,4,5-T | 20 | 2 | 9,1 | 36 | |
| | 20 | 10 | 5,5 | 22 | |
| | 20 | 20 | 5,5 | 22 | |
| | 20 | 50 | 2,7 | 11 | +++ |
| MCPB | 19 | 2 | 4,7 | 19 | ++ |
| | 20 | 10 | 12,1 | 48 | +++ |
| | 20 | 20 | 14,1 | 56 | |
| | 20 | 50 | 0,9 | 3 | |
| 2,4-DP | 20 | 2 | 7,3 | 29 | + |
| | 20 | 10 | 1,1 | 4 | + |
| | 20 | 20 | 0,7 | 3 | + |
| | 19 | 50 | 1,3 | 5 | ++ |
| MCPA | 20 | 2 | 10,3 | 41 | |
| | 20 | 10 | 0,8 | 3 | ++ |
| | 20 | 20 | 0,0 | 0 | |
| | 20 | 50 | 0,9 | 3 | |
| CMPP | 20 | 2 | 5,9 | 24 | + |
| | 20 | 10 | 0,7 | 3 | + |
| | 20 | 20 | 1,4 | 6 | +++ |
| | 20 | 50 | 0,9 | 4 | + |
| 2,4-D | 19 | 2 | 4,7 | 19 | ++ |
| | 20 | 10 | 1,2 | 5 | ++ |
| | 20 | 20 | 0,3 | 1 | |
| | 20 | 50 | 0,0 | 0 | |
| Dalapon | 20 | 2 | 12,8 | 51 | |
| | 19 | 10 | 17,7 | 71 | |
| | 19 | 20 | 17,0 | 67 | |
| | 20 | 50 | 19,0 | 75 | |
| Aminotriazol | 20 | 2 | 21,8 | 87 | |
| | 20 | 10 | 23,8 | 95 | |
| | 18 | 20 | 15,7 | 63 | |
| | 20 | 50 | 17,1 | 68 | |
| TCA | 20 | 2 | 12,5 | 50 | |
| | 20 | 10 | 12,1 | 48 | |
| | 20 | 20 | 11,4 | 45 | |
| | 20 | 50 | 15,9 | 64 | |

Aus der Tabelle ist zu erkennen, daß mit Ausnahme von Dalapon, Aminotriazol und TCA in den angewandten Mengen in allen Fällen eine deutliche Hemmung der Längenzunahme der Keimwurzel bewirkt wurde. Die stärkste Wirkung hatte 2,4-D. Noch 2 γ 2,4-D schränkten das Wachstum auf 19% der Kontrollen ein,

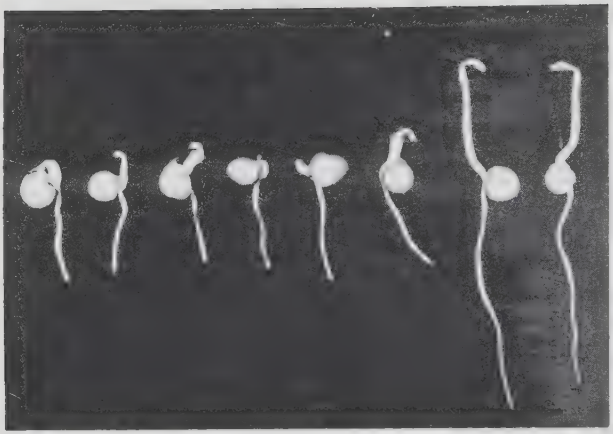



Abbildung 1

Erbsen im Hypocotyl-Test; Einsatz von 10 γ 2,4-D/Erbse

α)Kontrollen

ß)Die behandelten Erbsen

Deutlich ist die Anschwellung am Wurzelende, sowie eine starke Hemmung des Epicotyls zu beobachten.

während 50 γ 2,4-D das Wachstum der Keimwurzeln vollständig hemmten (Abb. 1). Eine ähnlich starke Wirkung hatten CMPP und MCPA. Eine Anschwellung der Keimwurzeln wurde bei allen chlorierten Phenoxyessigsäuren festgestellt, wenn auch in unterschiedlicher Stärke.

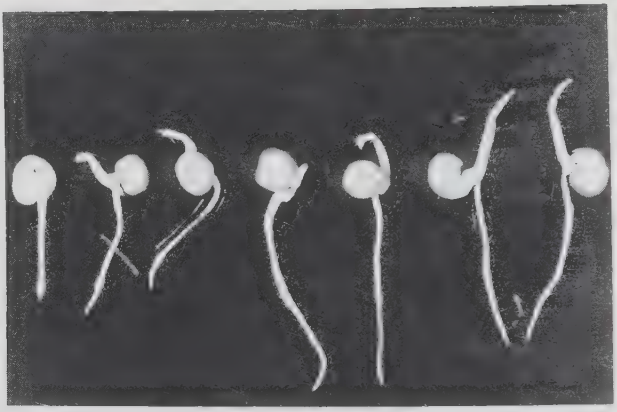
c) Harn gesunder Personen

In einer weiteren Versuchsreihe wurden 20 Spontanharne von offensichtlich gesunden Versuchspersonen geprüft. Diese versicherten, daß sie in den letzten 24 Stunden keine Medikamente zu sich genommen hatten. Von dem frischen Harn wurde mit Indikatorpapier der pH-Wert gemessen. An jede Erbse wurden sodann 0,02 ml Harn gegeben. Die Erbsen hielten wir wieder unter den gleichen Bedingungen im Brutschrank wie zuvor. Nach 48 Stunden wurde die Länge der Keimwurzeln gemessen.

Es ergaben sich folgende Werte:

| Harn Nr. | pH-Wert | Anzahl d. Erbsen | Längenzunahme der Keimwurzeln in mm | in % d.Kontrolle |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,8 | 20 | 15,7 | 63 |
| 2 | 6,2 | 20 | 15,6 | 63 |
| 3 | 5,4 | 19 | 5,6 | 22 |
| 4 | 6,8 | 20 | 13,0 | 52 |
| 5 | 7,0 | 20 | 6,6 | 26 |
| 6 | 7,0 | 20 | 12,8 | 51 |
| 7 | 5,8 | 20 | 12,8 | 51 |
| 8 | 6,4 | 20 | 14,3 | 57 |
| 9 | 7,4 | 20 | 14,9 | 60 |
| 10 | 6,2 | 20 | 8,8 | 35 |
| 11 | 5,4 | 20 | 12,7 | 51 |
| 12 | 6,2 | 20 | 9,9 | 40 |
| 13 | 6,2 | 20 | 12,0 | 48 |
| 14 | 5,4 | 20 | 6,7 | 27 |
| 15 | 6,2 | 20 | 4,8 | 19 |
| 16 | 5,4 | 20 | 6,0 | 24 |
| 17 | 5,8 | 20 | 9,8 | 39 |
| 18 | 7,0 | 18 | 8,1 | 32 |
| 19 | 7,0 | 20 | 8,8 | 35 |
| 20 | 6,2 | 19 | 11,7 | 47 |

Aus der Tabelle geht hervor, daß der pH-Wert der geprüften Harnproben im schwach sauren bis neutralen Bereich (5,4-7,4)



β α

Abbildung 3

Erbsen im Hypocotyl-Test; Behandlung der Erbsen mit Harn nach Aufnahme von 2,4-D. Die Menge des Herbicides betrug etwa 4 γ /Erbse.

α)Kontrollen

ß)Behandelte Erbsen

Hier fallen wieder die starken Anschwellungen am Wurzelende bei drei der behandelten Erbsen auf. Bei den anderen beiden Erbsen ist nur das Epicotyl beeinflußt.

d) Harn nach 2,4-D-Aufnahme

Am 2. September 1965 wurde in die Städt. Krankenanstalten München der Patient Otto U. mit einer 2,4-D-Vergiftung eingeliefert. Er hatte eine unbekannte Menge "Hedonal" zu sich genommen. Hedonal ist ein 2,4-D-Präparat.

Wir untersuchten eine Harnprobe vom 2./3.9.1965. Nachdem die Anwesenheit von Medikamenten und anderen Giften ausgeschlossen worden war, ergab die spektrophotometrische Untersuchung des sauren Harnextraktes nach papierchromatographischer Reinigung die Anwesenheit von unverändertem 2,4-D in einer Konzentration von 18,8 mg%.

Für unseren Test verwendeten wir diesen Harn. Bei Zugabe von 0,02 ml Harn wirkten dann pro Erbse ca. 4 γ 2,4-D ein, so daß wir an den Keimwurzeln Anschwellungen erwarten konnten, die auch tatsächlich zu beobachten waren (Abb. 3).

| Anzahl der Erbsen | Längenzunahme der Keimwurzeln in mm | in % d. Kontrolle | Anschwellungen |
|---|---|---|---|
| 19 | 1,2 | 5 | +++ |

3. Kresse-Test

Voraussetzung für die Prüfung eines Herbicides im Erbsenhypocotyl-Test war, daß die zu prüfende Verbindung selbst oder eins ihrer Salze bzw. Ester wasserlöslich war. Dies traf nur auf einige der auf S.13-41genannten Herbicide zu, nämlich auf 2,4,5-T, 2,4-DP, MCPA, CMPP, 2,4-D, Dalapon, Aminotriazol und TCA.

Zur Prüfung der übrigen aufgeführten Verbindungen war eine andere Versuchsanordnung erforderlich. Daneben hatte sich der Erbsenhypocotyl-Test als relativ aufwendig in den erforderlichen Vorbereitungen erwiesen. Die Versuchsdauer betrug 5 Tage.

α β γ δ

Abbildung 4

Kressetest, Vorversuch (Makrotest)

α) Kontrolle
β) Einwirkung von 1 mg Prometryn
γ) Einwirkung von 5 mg Prometryn
δ) Einwirkung von 10 mg Prometryn

Gut zu beobachten ist der Einfluß auf das Stengelwachstum bei zunehmender Dosis des Herbicids.

Wir suchten deshalb nach einer Testpflanze, die schnell wuchs und genügend empfindlich gegenüber möglichst vielen Herbiciden war. Die Zuchtbedingungen sollten einfach und die Applikation auch wasserunlöslicher Herbicide möglich sein.

Schon Audus (1950, 1959) hatte mit Kressewurzeln gearbeitet und beobachtet, daß diese sehr empfindlich gegenüber 2,4-D sind. Er stellte fest, daß die Auskeimung der Kresse mit einer bestimmten Menge dieses Herbicids völlig zu unterdrücken war. Da Gartenkressesamen das ganze Jahr über erhältlich ist, die Pflanze schnell wächst und außerdem Herbiciden gegenüber recht empfindlich ist, führten wir jetzt Versuche hiermit durch.

Bei einem Vorversuch bedeckten wir den Boden einer Petrischale von etwa 5 cm Durchmesser mit einer Watteschicht und gossen darauf 10 ml Wasser, in denen 10,5 und 1 mg Prometryn suspendiert waren. Zur Kontrolle wurde ein Leerwert mitgeführt, auf den nur 10 ml Wasser gegeben wurden.

Sodann verteilten wir in jedes Schälchen ca. 500 mg Kressesamen gleichmäßig. Um ein Austrocknen der Schälchen zu verhindern kamen diese in eine feuchte Kammer, die aus einer Grundplatte, auf der feuchtes Filtrierpapier gebreitet war, sowie einer lichtdurchlässigen Plastikhaube bestand. Die Versuche wurden bei einer Temperatur von 25°C durchgeführt. Die Beobachtungszeit betrug 5 Tage. Es handelt sich bei der von uns gewählten Anordnung um einen kombinierten Auskeimungstest mit anschließender Wachstumsbeobachtung. Jeden Tag wurde der Entwicklungszustand der Kresse protokolliert, wobei die Testschälchen mit den Kontrollen ohne Herbicidzusatz verglichen wurden. Nach Ablauf von 4 Tagen zeigte sich das in Abb. 4 wiedergegebene Bild. Sehr deutlich ist zu sehen, daß sich die Kressepflänzchen bei der Kontrolle gut entwickelt hatten, während mit zunehmender Herbicidmenge eine Hemmung erkennbar war, die sich besonders in dem vermindertem Längenwachstum der Stengel bemerkbar machte.

Die Anwendung wasserunlöslicher Herbicide in Form von Suspensionen führte zu einer ungleichmäßigen Einwirkung auf die Testpflanzen. Deshalb wurden in den systematischen Versuchsreihen die wasserlöslichen Herbicide in wässriger Lösung, die wasserunlöslichen Herbicide dagegen in einem geeigneten organischen Lösungsmittel auf die Watte gegeben. Als Lösungsmittel eignete sich in fast allen Fällen (mit Ausnahme des Simazins) Äthanol. Nach Verdunsten des Äthanols wurde die Watte mit 10 ml Wasser getränkt.

Bei der Durchführung des Versuches mit Petrischalen von ca. 5 cm Durchmesser (Makrotest) wurde bei Einsatz von 1, 5 und 10 mg Herbicid eine Herbiciddichte von etwa

$$42\ \gamma / cm^2$$
$$207\ \gamma / cm^2$$
und $$413\ \gamma / cm^2$$

erreicht.

Da sich hierbei einige Herbicide als zu wenig wirksam erwiesen, entwickelten wir außerdem einen Mikrotest, um die Nachweisgrenze senken zu können.

Hierzu wurden Uhrgläschen von 3 cm Durchmesser mit einer passenden Wattelage versehen. Auf jedes Gläschen wurde die zu prüfende Herbicidmenge in 1 ml Wasser bzw. Äthanol gelöst gegeben und angetrocknet. Sodann verteilten wir ca. 30 Kressesamen auf der Watteschicht und gaben noch 2 ml Wasser hinzu. Anschließend kamen die Uhrgläschen in die feuchte Kammer. Der weitere Versuchsablauf entsprach dem Test in den Petrischalen.

Da die Entwicklung der Pflanzen stark temperaturabhängig ist, wurden stets Kontrollen mitgeführt, die sich unter genau den gleichen Bedingungen wie die Testpflanzen entwickelten.

Bei der Beurteilung der Auskeimung und des Wachstums der Pflanzen wurde die Ausbildung der Stengel und Wurzeln, der Geotropismus und die Grünfärbung der Blätter bewertet. Hierüber wur-

de alle 24 Stunden Protokoll geführt. Bei den meisten Herbiciden war auch noch bei Einsatz sehr geringer Mengen schon nach 48 Stunden eine deutliche Hemmwirkung zu beobachten. Diese dauerte gelegentlich nur bis zum 3. oder 4. Beobachtungstag, wonach die Pflanze dann von den Kontrollen nicht mehr zu unterscheiden waren.

Es ist zweckmäßiger nach 72 Stunden zu beobachten, weil nach 96 Stunden die geschädigte Pflanze oft das gleiche Bild wie die Kontrolle gibt, weil sie inzwischen aufgeholt hat. Das kann zu einem Übersehen von Herbicid und zu einer Erhöhung der Nachweisgrenze führen. Dagegen ist eine kürzere Beobachtungszeit als 72 Stunden auch nicht zu empfehlen, weil sonst unwesentliche Unterschiede im Wachstum, die nicht durch Hemmstoffe bedingt sind, zu stark ins Gewicht fallen und eine Hemmung vorspiegeln können.

Die endgültige Beurteilung erfolgte deshalb bei den Versuchen mit Reinsubstanzen grundsätzlich nach 72 Stunden. Nur bei den Wuchsstoffherbiciden sowie den untersuchten Vergiftungsfällen betrug die Beobachtungszeit 6 x 24 Stunden.

a) Kontrollen

Bei einer Temperatur von 22°C und den genannten Bedingungen waren ohne Herbicidzusatz die folgenden Beobachtungen bei Kressesamen zu machen:

Nach 24 Stunden: Die Keimwurzel war 3-5 mm lang.

Nach 48 Stunden: Die 6 mm langen Stengel begannen sich aufzurichten. Die Länge der Wurzeln betrug 8 mm. In der Gegend des Vegetationskegels waren zahlreiche pinselartig angeordnete Wurzelhaare festzustellen.
Die Blätter hatten eine normale grüne Farbe.

Nach 72 Stunden: Die Stengel waren alle aufgerichtet und zwischen 0,9 und 1,3 cm lang.
Die Länge der Wurzeln betrug 2,5 cm, sie hafteten gut in der Watte und waren nicht her-

auszuziehen, ohne abzureißen.
Die Blätter waren dunkelgrün.

Nach 96 Stunden: Die Länge der Stengel betrug 2 cm.
Die Wurzeln waren derart verfilzt, daß ihre Länge nicht mehr meßbar war.
Die Blätter waren saftig dunkelgrün gefärbt.

Vergleiche Abbildung 5 b, 6 b, 7 b.

b) Versuche mit Herbiciden

Alle auf S.13bis S.41 genannten Herbicide wurden zunächst in dem Makrotest in Petrischälchen unter Einsatz von 10,5 und 1 mg Herbicid geprüft. Sodann wurde mit allen Verbindungen ein Mikrotest auf Uhrgläschen durchgeführt, bei dem zunächst jeweils 1 mg Herbicid eingesetzt wurde. Im allgemeinen ergab sich hier - wie zu erwarten - eine stärkere Hemmung als bei Einsatz von 1 mg im Makrotest, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß nunmehr die Herbiciddichte statt 42 $\gamma/cm^2$, 143 $\gamma/cm^2$ betrug.

Bei allen Verbindungen wurden weitere Versuche mit geringeren Mengen an Herbicid durchgeführt so lange, bis eine deutliche Hemmwirkung nicht mehr nachweisbar war.

$\alpha$) Chlorierte Phenoxyessigsäuren

$\alpha\alpha$) 2,4-D

Makrotest:

Nach 6 Tagen war bei Dosierungen von 10 und 5 mg noch keine Auskeimung zu bemerken. Die Samen waren gequollen, die Keimspitzen waren zu ahnen.

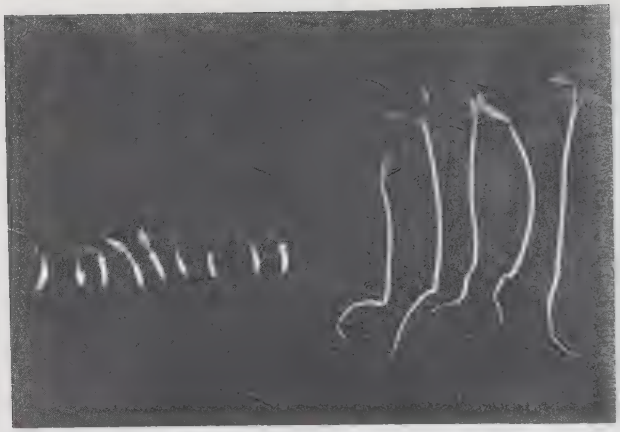
Beim Einsatz von 1 mg wurde eine gleichmäßige Auskeimung beobachtet. Die Stengel waren bis 3 mm lang und hatten kolbige Austreibungen. Die Wurzeln waren 0,5 mm lang und standen fast alle in die Luft. Die Blätter waren dunkelgrün (Abb. 5a, 5b).

β α

Abbildung 5 a

Kressetest (Makrotest) mit 1 mg 2,4-D
Gesamtansicht

α) Kontrolle
ß) Wirkung von 1 mg 2,4 -D; der gestörte Geotropismus ist gut zu erkennen. Die Stengel mit den kaum abgrenzbaren Wurzeln stehen in die Luft.



ß α

Abbildung 5 b

Kressetest (Makrotest) mit 1 mg 2,4-D
Einzelansicht

α) Kontrolle (Wurzeln sind abgerissen)
ß) Wirkung von 1 mg 2,4-D
Besonders gut sind hier die kolbigen Anschwellungen der Stengel zu sehen, ebenso die totale Hemmung des Wurzelwachstums.

Mikrotest:

Bei Einsatz von 1 mg sind die Samen gequollen und geöffnet. Die Keimspitzen sind zu sehen. Die Samenschalen sind dunkler gefärbt als bei den Kontrollen.

500γ: Die Samen sind gequollen, die Schalen geöffnet. Die Keimspitze ist sichtbar.

250γ: Zum Teil sind schon Stengel sichtbar, die eine Länge von 0,5 mm haben. Die Wurzellänge ist nicht meßbar, weil die Wurzeln nur angedeutet sind. Die Blätter sind gelb gefärbt und noch von den Schalen umhüllt.

125γ: Die Stengellänge beträgt 1 mm, die Wurzeln sind 0,5 mm lang. Die Blätter sind grün. Es ist nur ein geringer Teil ausgekeimt.

60, 30 und 15γ: Die Stengellänge beträgt 1,5 mm, die Wurzeln sind 0,5 mm lang, die Blätter sind dunkel grün.

1 γ: Die Stengellänge beträgt 1,5 cm, die Wurzellänge 1 cm. Die Blätter sind normal grün gefärbt.

Bei Einsatz von 0,5 γ ist das gleiche zu beobachten. Erst bei Einsatz von 0,1 γ ist gegenüber der Kontrolle kein Unterschied mehr zu bemerken.

Nach 96 Stunden Beobachtungszeit:

500 und 250 γ: Die Stengellänge der spärlich ausgekeimten Pflänzchen beträgt 1 mm. Die Wurzeln sind nur 0,5 mm lang.

125γ: Fast gleichmäßig ausgekeimt. Die Stengel sind 1-2 mm lang, die Wurzeln 0,5 mm, sie schauen in die Luft.

60, 30 und 15γ: Die Stengellänge beträgt bis zu 3 mm, Die Stengel haben kolbenförmige Anschwellungen. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang und schauen in die Luft.

ββ) 2,4,5-T

Makrotest:

Bei Einsatz von 10 und 5 mg keine Auskeimung. Samen sind gequollen, Schale geöffnet.

Bei Einsatz von 1 mg gleichmäßige Auskeimung. Die Stengellänge beträgt bis zu 5 mm. Die Stengel haben kolbenförmige Anschwellungen. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang und schauen in die Luft. Die Blätter sind dunkelgrün.

Mikrotest:

1 mg: Keine Auskeimung, die Samen sind gequollen, die Keimspitze zu ahnen.

500 und 250γ: Fast überall sind die Keimspitzen zu sehen.

125γ: Vereinzelt schon Stengel, die eine Länge von 1 mm haben. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang. Die Blätter sind dunkel grün.

60γ: Es sind noch mehr Stengel zu beobachten, die die gleiche Länge haben wie bei Einsatz von 125γ.

30 und 15γ: Schon sehr viele Stengel sind vorhanden, die eine Länge von 1 - 1,5 mm haben. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang und weisen viele Wurzelhaare auf. Die Blätter sind frisch grün.

Bei Einsatz von 1γ ist kein Unterschied gegenüber der Kontrolle zu beobachten.

Nach 96 Stunden Beobachtungszeit:

500 und 250γ: Teilweise sind nur Keimspitzen zu sehen, teilweise aber auch Stengel, die 1 mm lang sind. Die Blätter sind gelb.

125 und 60γ: Schon die Hälfte der Stengel ist 1 mm lang und hat kolbige Anschwellungen. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang.

30γ: Stengellänge 2-3 mm, kolbige Anschwellungen. Blätter dunkelgrün.

15γ: Stengellänge schon bis 5 mm, kolbige Anschwellungen des Stengels, Wurzeln 0,5 mm lang, zeigen in die Luft.

rr) MCPA

Makrotest:

Bei Einsatz von 10 und 5 mg keine Auskeimung zu beobachten.

Bei Einsatz von 1 mg beträgt die Stengellänge 5 mm. Die Anschwellungen sind nur angedeutet. Die Wurzellänge beträgt 0,5 mm. Die Blätter sind dunkelgrün.

Mikrotest:

1 mg: Keine Auskeimung zu beobachten.

500, 250, 125 und 60γ: Vereinzelt sind Stengelchen zu beobachten, die 1 mm Länge haben. Die Wurzeln stehen in die Luft und sind nur 0,5 mm lang.

30 und 15γ: Es sind hier schon mehr Stengel zu sehen, die eine Länge von 1-1,5 mm aufweisen. Die Wurzeln sind wieder 0,5 mm lang. Die Blätter haben eine schöne grüne Farbe.

1γ: Die Stengellänge beträgt 8 mm, die Wurzeln sind 1 cm lang. Die Blätter dunkelgrün.

0,5γ: Die Stengellänge beträgt 1,4 cm, die Wurzellänge 1,2 cm.

Bei Einsatz von 0,1γ ist kein Unterschied gegenüber der Kontrolle zu beobachten.

Nach 96 Stunden Beobachtungszeit:

500, 250, 125 und 60γ: Noch immer sind die Stengel nur sehr spärlich vorhanden. Sie sind noch immer nur 1 mm lang, haben aber jetzt teilweise kleine kolbige Anschwellungen. Die Wurzellänge beträgt 0,5 mm. Die Wurzeln zeigen in die Luft. Die Blätter sind dunkelgrün.

30 und 15 γ: Die Stengellänge beträgt bis 3 mm. Die Stengel haben kolbige Anschwellungen, die Wurzeln sind 0,5 mm lang und zeigen in die Luft.

ββ) MCPB

Makrotest:

Bei Einsatz von 10 und 5 mg keine Auskeimung. Bei Einsatz von 1 mg beträgt die Stengellänge 5 mm, die Stengel sind stark kolbig aufgetrieben. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang. Die Blätter sind tief dunkelgrün.

Mikrotest:

1 mg: Keine Auskeimung.

500 γ: Keine Auskeimung.

250 und 125 γ: Die Stengellänge betragt 2 mm. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang und zeigen in die Luft. Die Blätter sind dunkelgrün.

60 γ: Die Stengel sind 3 mm lang und haben kolbige Anschwellungen. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang und weisen viele Wurzelhaare auf. Die Blätter sind dunkelgrün.

30 und 15 γ: Gleichmäßige Auskeimung. Die Stengellänge beträgt 3-4 mm. Die kolbige Anschwellung ist sehr ausgeprägt. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang. Zum Teil sind sie richtig orientiert und dringen in die Watte ein. Blätter dunkelgrün.

1 γ: Stengellänge 1,6 cm. Die Wurzellänge beträgt 2,6 cm. Bei Einsatz von 0,5 und 0,1 γ ist kein Unterschied gegenüber der Kontrolle zu beobachten.

Nach 96 Stunden Beobachtungszeit:

500 γ: Keine Auskeimung.

250 γ: Stengellänge 3-4 mm. Die Stengel haben z.T. kolbige Anschwellungen. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang. Die Blätter dunkelgrün.

125 γ: Stengel sind bis 7 mm lang, mit sehr starken Anschwellungen. Wurzellänge und Blattfarbe unverändert.

60 γ: Stengellänge gleichmäßig 5 mm, die Stengel zeigen ausgeprägte Anschwellungen. Die Wurzellänge beträgt 0,5 mm. Die Wurzeln zeigen alle in die Luft. Blattfarbe unverändert.

30 γ: Stengellänge beträgt 7 mm. Die Anschwellungen sind sehr ausgeprägt. Die Wurzeln zeigen nur noch vereinzelt in die Luft, sonst dringen sie in die Watte ein.

15 γ: Die Stengel sind bis 1,2 cm lang und haben ebenfalls starke Anschwellungen. Die Wurzellänge beträgt noch immer 0,5 mm. Sie weisen jetzt alle zur Watte hin.

cc) CMPP

Makrotest:

Bei Einsatz von 10 und 5 mg keine Auskeimung zu beobachten. Bei Einsatz von 1 mg beträgt die Stengellänge 5 mm. Die Stengel weisen kolbige Anschwellungen auf. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang und zeigen in die Luft. Viele Wurzelhaare. Die Blätter sind tief dunkelgrün.

Mikrotest:

1 mg: Keine Auskeimung.

500 und 250 γ: Die Keimspitzen sind zwischen den geöffneten Schalen zu ahnen.

125 und 60 γ: Zum Teil beträgt die Stengellänge 1 mm. Die Wurzeln weisen in die Luft und sind 0,5 mm lang. Blattfarbe dunkelgrün.

30 und 15 γ: Die Stengel sind 1 mm lang und haben schon kolbige Anschwellungen. Die Wurzeln schauen in die Luft und sind 0,5 mm lang. Blattfarbe unverändert.

1 γ: Stengellänge 1 cm, Wurzellänge 8 mm. Die Blätter sind dunkelgrün.

0,5 γ: Stengel 1,6 cm, Wurzellänge 2,3 cm.

Bei Einsatz von 0,1 γ ist kein Unterschied gegenüber der Kontrolle zu bemerken.

Nach 96 Stunden Beobachtungszeit:

500 und 250 γ: Vereinzelt sind Stengel von 1 mm Länge zu bemerken, die aber noch keine Anschwellungen zeigen. Wurzeln 0,5 mm.

125 und 60 γ: Stengellänge 1 mm. Die Stengel haben teilweise angedeutete Auftreibungen. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang und zeigen in die Luft. Viele Wurzelhaare. Die Blattfarbe ist unverändert.

30 γ: Stengellänge 2-3 mm. Die Stengel haben manchmal kolbige Auftreibungen. Wurzellänge und Blattfarbe wie oben.

15 γ: Stengellänge 5-7 mm. An den Stengeln sind überall kolbige Anschwellungen zu beobachten. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang und haben die richtige Orientierung. Die Blätter sind dunkelgrün.

1 γ: Stengellänge 2,3 cm, Wurzellänge 1,2 cm.

§§) 2,4-DP

Makrotest:

Kein Unterschied gegenüber dem Makrotest bei 2,4-D.

Mikrotest:

1 mg: Keine Auskeimung.

500, 250, 125 und 60 γ: Vereinzelt sind schon Stengel vorhanden, die 1 mm lang sind. Die Wurzeln stehen in die Luft und sind 0,5 mm lang. Die dunkelgrünen Blätter sind noch von den Samenschalen eingehüllt.

30 γ: Fast gleichmäßig ausgekeimt. Stengellänge überall 1 mm, Wurzellänge 0,5 mm.

15 γ: Stengel sind bis 2 mm lang und haben z.T. schon kolbige Auftreibungen. Die 0,5 mm langen Wurzeln zeigen in die Luft.

1 γ: Stengellänge von 5 mm bis 1,1 cm. Die Wurzeln sind nur 1 cm lang. Bei Einsatz von 0,5 und 0,1 γ ist kein Unterschied gegenüber der Kontrolle zu beobachten.

Nach 96 Stunden Beobachtungszeit:

500, 250, 125 und 60 γ: Etwa die Hälfte ist ausgekeimt und weist kleine Stengel von 1-2 mm auf. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang und stehen in die Luft. Die Blätter sind dunkelgrün.

30 γ: Stengellänge 3-4 mm. Die Stengel sind stark kolbig aufgetrieben. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang und zeigen in die Luft. Die Blätter sind dunkelgrün.

15 γ: Die Stengel sind jetzt bis 7 mm lang, sind stark kolbig aufgetrieben. Die Wurzeln sind 0,5 mm lang und zeigen nur noch z.T. in die Luft. Meistens dringen sie in die Watte ein. Die Blätter sind tief dunkelgrün.

β) Dalapon

Makrotest:

Bei Einsatz von 10 mg beträgt die Stengellänge 1,5 cm, die Wurzeln sind sehr lang und dringen nicht in die Watte ein. Die Blätter sind frisch grün. Bei Einsatz von 1 und 5 mg ist kaum ein Unterschied gegenüber den Kontrollen zu bemerken. Die Stengellänge ist normal, nur die Wurzeln sind lang und dünn und dringen nicht in die Watte ein.

Mikrotest:

1 mg: Stengellänge 1 cm, Wurzeln gut entwickelt, aber ohne Wurzelhaare, haften nicht in der Watte. Bei Einsatz von 500 γ ist das gleiche zu beobachten. Bei niedrigerer Dosierung ist kein Unterschied gegenüber der Kontrolle zu bemerken.

γ) TCA

Makrotest:

Bei allen drei Dosierungen sind die Stengel etwa 1,2 cm lang, die Wurzellänge beträgt 3,4 cm. Die Wurzeln dringen nicht in die Watte ein. Die Farbe der Blätter ist frisch grün.

Mikrotest:

1 mg: Stengellänge 1,7 cm, Wurzellänge über 3 cm. Die Blätter sind frisch grün.

500 γ: Die Stengel sind 1,8 - 2 cm lang, die Wurzeln 3 cm. Die Blätter sind frisch grün.

δ) Herbicide Carbamate

Bei unseren Testversuche mit Carbamaten fanden wir bestätigt, daß es sich um stark wurzelschädigende Verbindungen handelt.

αα) Propham (IPC)

Makrotest:

Die Stengel sind bei einer Dosierung von 10 mg wesentlich gedrungener als in der Kontrolle und im Längenwachstum deutlich gehemmt. Bei Einsatz von 1 mg ist kein Unterschied zur Kontrolle festzustellen. Die Wurzelentwicklung ist bei allen drei Dosierungen stark gehemmt.

10 mg: Stengellänge 3 mm; Wurzellänge 2-5 mm.

5 mg: Stengellänge 5 mm; Wurzellänge 2-5 mm.

Die Blätter erscheinen chlorophyllärmer als bei der Kontrolle.

Mikrotest:

1 mg: Qualitativ ergibt sich das gleiche Bild. Stengellänge 8 mm, Wurzellänge 3 mm. Die Blätter sind normal gefärbt.

500 γ: Hier war eine deutliche Hemmung nur bis zu 48 Std. zu

beobachten (Stengellänge 3 mm, Wurzellänge 4 mm). Nach 72 Std. war kein Unterschied gegenüber der Kontrolle mehr festzustellen.

Geringere Mengen ergaben keinen Unterschied gegenüber der Kontrolle.

ββ) Chlorphropham (CIPC)

Makrotest:

Bei allen drei Dosierungen sind die Stengel kurz und gedrungen und erscheinen wesentlich kräftiger als bei der Kontrolle. Die Wurzeln sind nur ganz gering ausgebildet. Die Blätter haben eine dunkelgrüne Farbe.

Mikrotest:

1 mg: Die Stengel liegen horizontal und sind nur 3 mm lang. Die Wurzellänge beträgt 0,5 mm, was erklärt, daß die Stengel keinen Halt haben. Die Blättchen sind frisch grün.

Bis zu 250 γ ist eine deutliche Hemmung sowohl des Stengels - als auch des Wurzelwachstums festzustellen.

Bei 125 γ beträgt nach 72 Std. die Länge der Stengel etwa 2 cm, die Länge der Wurzel 5 mm. Die Stengel sind gleichfalls kräftiger als bei den Kontrollen.

60 γ: Stengel 1,3 cm, Wurzeln 7-8 mm.

30 γ: Stengel 1,4 cm, Wurzel 7 mm.

Bei Einsatz von 15 γ war kein deutlicher Unterschied zu der Kontrolle mehr zu beobachten.

ττ) BIPC

Makrotest:

Bei allen drei Dosierungen beträgt die Höhe der Stengel nur bis zu 1/5 der Kontrolle. Die Wurzeln sind nur ganz dürftig entwickelt, ihre Länge beträgt praktisch immer 5 mm. Die Blätte sind dunkelgrün gefärbt.

Mikrotest:

1 mg: Es ergibt sich das gleiche Bild wie im Makrotest. Qualitativ das gleich Bild ergibt sich auch bis zum Einsatz von 60 γ. Hier beträgt die Stengellänge etwa 7 mm, die Wurzellänge 5 mm; die Blätter sind frisch grün. 24 Std. später beträgt die Stengellänge 1,4 cm, die Wurzellänge noch immer nur 5 mm.

Bei Einsatz von 30 γ ist keine Hemmung des Stengelwachstums mehr zu beobachten. Die Wurzellänge aber beträgt nur 7 mm, nach 96 Std. 1 cm.

Bei Einsatz von 15 γ konnte kein Unterschied zu den Kontrollen mehr festgestellt werden.

ss) Triallate

Makrotest:

Die Stengel sind bei einer Dosierung von 10 mg nur 2/3 so hoch wie bei der Kontrolle, die Wurzeln sind kurz und dringen nicht in die Watte ein. Die Blätter sind ausgesprochen chlorophyllreich. Bei Einsatz von 1 mg ist kein Unterschied zur Kontrolle festzustellen. Bei Einsatz von 5 mg ist das Stengel- und Wurzelwahhstum gehemmt.

Mikrotest:

1 mg: Stengellänge beträgt 0,5 cm, die Wurzeln sind gut entwickelt.

500 γ: Es ist kaum ein Unterschied gegenüber der Kontrolle zu beobachten.

c) Herbicide Harnstoffverbindungen

aa) Diuron

Makrotest:

Die Stengel sind bei allen drei Dosierungen stark gehemmt, selbst bei 1 mg beträgt die Stengellänge nur 2 mm. Die Wurzelentwicklung ist ebenfalls in allen 3 Dosierungen stark gehemmt.

Das Grün der Blätter sieht unnatürlich und künstlich aus.

Zwischen Stengel und Wurzel hat sich vielfach ein starker Bogen entwickelt, der Geotropismus ist gestört, die Wurzeln dringen nicht in die Watte ein.

Mikrotest:

1 mg: Es ist nur ein Teil ausgekeimt.
Die Stengel sind nicht so hoch wie bei der Kontrolle, die Wurzeln sind ebenfalls wesentlich kürzer. Die Blätter haben auch hier eine merkwürdige Grünfärbung.

500 γ: Die Stengel sind kräftiger als bei der Kontrolle, sie haben aber nur 1/3 der Höhe. Die Wurzellänge beträgt 6 mm. Die Blattfärbung ist auffällig.

100 γ: Die Stengel sind gut entwickelt, können aber nicht aufrecht stehen, weil die Wurzeln nicht in die Watte eindringen und sehr gering entwickelt sind. Die Blattfarbe zeigt keinen Unterschied gegenüber der Kontrolle.

Bei niedrigerer Dosierung ist kein Unterschied gegenüber den Kontrollen zu bemerken.

ββ ) OMU

Makrotest:

Sehr starke Hemmwirkung bei 5 und 10 mg. Die Samen sind nur gequollen.

Bei 1 mg starke Hemmung der Stengel- und Wurzelentwicklung, Blattfarbe hell gelb.

Mikrotest:

1 mg: Selbst bei längerer Beobachtungszeit nur gequollene Samen zu bemerken.

500 γ: Wie bei 1 mg.

250 γ: Die Stengel sind sehr kurz und stehen noch nicht aufrecht. Wurzellänge 7 mm. Die Blätter sind hellgelb.

125 γ: Stengellänge 1,4 cm, Wurzellänge 2,1 cm. Blätter frisch grün.

Geringere Mengen ergaben keinen Unterschied gegenüber den Kontrollen.

γγ) Linuron

Makrotest:

Bei Einsatz von 10 und 5 mg beträgt die Stengellänge 5 mm, die Wurzellänge 6-8 mm. Die Blätter sind normal grün.

Bei Einsatz von 1 mg beträgt die Stengellänge 9 mm, die Wurzeln sind so gut wie bei der Kontrolle entwickelt. Die Blätter sind normal grün.

Mikrotest:

1 mg: Stengellänge 4 mm, Wurzellänge 1 cm. Die Blätter sind dunkelgrün.

500 γ: Stengellänge 1 cm, Wurzellänge 8 mm. Die Blätter sind dunkelgrün.

250 γ: Stengel sind 1,4 cm lang, die Wurzeln 2,8 cm.

125 γ: Stengellänge 1,6 cm, Wurzellänge 3 cm.

Bei Einsatz von 60 γ ergab sich kein Unterschied gegenüber der Kontrolle.

ββ) Monolinuron

Makrotest:

Bei 10 mg sind die Samen nur gequollen. Bei Einsatz von 5 mg ist nur ein Teil der Samen gekeimt. Es sind alle Keimstufen vorhanden, von gequollenen Samen bis zu 5 mm langen Keimspitzen.

Bei Einsatz von 1 mg sind die Stengel fast noch besser entwickelt als bei der Kontrolle, die Stengel sind kräftiger, die Wurzeln genausolang wie bei der Kontrolle.

Mikrotest:

1 mg: Die Samen sind z.T. nur gequollen, der andere Teil hat winzige Keimspitzen.

500 γ: Die Stengel sind sehr dünn, die Länge beträgt 7 mm, die Wurzeln sind 1 cm lang. Die Blätter haben eine frischgrüne Farbe.

250 γ: Die Stengellänge beträgt 1,5 cm, die Wurzellänge 1,7 cm, die Wurzeln dringen nicht in die Watte ein. Bei Einsatz von 125 γ ist kein deutlicher Unterschied gegenüber der Kontrolle zu beobachten.

ξ) Triazine

αα) Atrazin

Makrotest:

Bei Einsatz von 10 mg beträgt die Stengellänge 1,3 cm, die Wurzeln sind normal entwickelt. Die Farbe der Blätter ist frisch grün. Bei Einsatz von 5 und 1 mg ist kein Unterschied zu den Kontrollen zu bemerken.

Mikrotest:

1 mg: Stengellänge 3 mm, Wurzellänge 5 mm, die Wurzeln zeigen in die Luft.

Bei Einsatz von 500 γ ist kaum ein Unterschied zu den Kontrollen zu beobachten.

ββ) Prometryn

Makrotest:

Bei Einsatz von 10 und 5 mg beträgt die Stengellänge nur etwa 6-7 mm. Die Wurzeln sind normal entwickelt. Die Blattfarbe ist kräftig grün. Bei Einsatz von 1 mg ist kaum ein Unterschied zu den Kontrollen zu beobachten.

Mikrotest:

1 mg: Die Stengellänge beträgt 5-6 mm, die Wurzeln sind 5 mm lang. Die Blätter sind frisch grün.

500 γ: Die Stengel sind 8 mm lang, Wurzellänge wie bei der Kontrolle. Blätter frisch grün.

250 γ: Dasselbe Bild wie bei 500 γ.

125 γ: Die Stengellänge beträgt 1,5 cm, die Wurzeln zeigen keinen Unterschied zu den Kontrollen.

ff) Propazin

Makrotest:

Bei allen drei Dosierungen ergibt sich, daß die Stengellänge der der Kontrollen entspricht. Die Wurzeln sind sehr viel länger als bei der Kontrolle, sie dringen überhaupt nicht in die Watte ein und winden sich über der Watte. Die Blätter sind normal grün.

Mikrotest:

1 mg: Unterschiedliche Auskeimung, z.T. beträgt die Stengellänge schon 2 cm, die Wurzeln sind normal lang. Die Blätter sind dunkelgrün.

Der Einsatz von geringeren Mengen ergibt keinen Unterschied gegenüber der Kontrolle.

ff) Simazin

Makrotest:

Bei allen drei Dosierungen sind die Stengel genauso gut wie bei der Kontrolle entwickelt. Die Wurzellänge entspricht ebenfalls der der Kontrolle. Die Wurzeln dringen aber nicht richtig in die Watte ein. Die Blätter sind gelb-grün.

Mikrotest:

1 mg: Stengellänge 1,5 cm, Wurzellänge 0,5 cm. Die Blätter sind dunkelgrün gefärbt.

Bei Einsatz von 500 γ normale Entwicklung des Stengels und der Wurzel.

η) Aminotriazol

Makrotest:

Bei Einsatz von 10 und 5 mg sind die Stengel nur 4 mm lang, die Wurzellänge beträgt zwischen 4 und 5 mm. Die Wurzeln schauen oftmals in die Luft. Die Stengel und Blätter sind vollkommen hellgelb gefärbt.

Bei Einsatz von 1 mg sind die Stengel 1,1 cm lang, die Wurzeln 1,2 cm. Der Geotropismus ist gestört. Die Blattfarbe ist gelb-grün.

Mikrotest:

1 mg: Stengellänge etwa 7 mm, die Wurzeln sind 1 cm lang und zeigen in die Luft. Sie sind dünn und glatt. Stengel und Blätter sind stark chlorotisch.

Bis zu einem Einsatz von 125 γ ist noch eine starke Hemmung des Wachstums zu beobachten. Die Stengel sind zwar genauso lang wie bei der Kontrolle, aber sie können nicht aufrecht stehen, da die Wurzeln nur 1 cm lang sind. Die Blätter sind hellgelb. Die Schälchen riechen faulig.

Bei Einsatz von 60 γ beträgt die Stengellänge 1,9 cm, die Wurzeln sind 1 cm lang. Die Blätter haben jetzt eine zart gelbe Färbung.

Bei Einsatz von 15 γ ist kein Unterschied gegenüber der Kontrolle mehr zu beobachten.

c) Untersuchungen mit Mageninhalt und Harn nach 2,4-D-Aufnahme

Das Untersuchungsmaterial stammte von dem auf S.51 erwähnten Patienten, der eine unbekannte Menge "Hedonal" (2,4-D-Präparat eingenommen hatte. Die toxikologische Untersuchung von Magen-

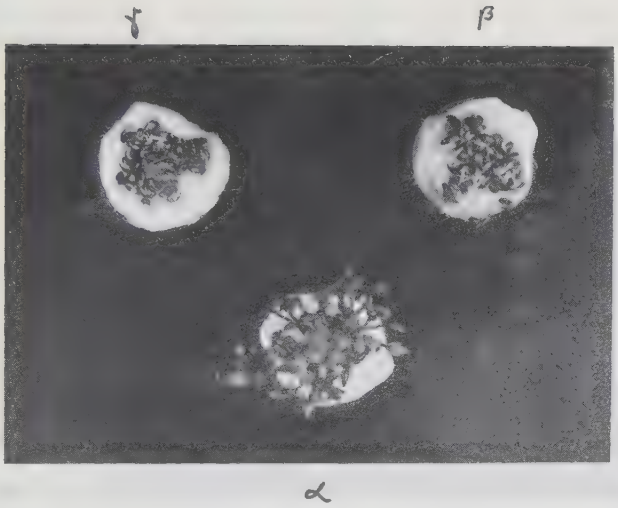



Abbildung 7 a

Kressetest (Mikrotest) mit Magenspülflüssigkeit nach 2,4-D-Aufnahme
Gesamtansicht

α) Kontrolle
ß) Wachstumshemmung durch 0,1 ml (entsprechend etwa 1 γ 2,4-D) Magenspülflüssigkeit
γ) Wachstumshemmung durch 1,0 ml (entsprechend etwa 10 γ 2,4-D) Magenspülflüssigkeit

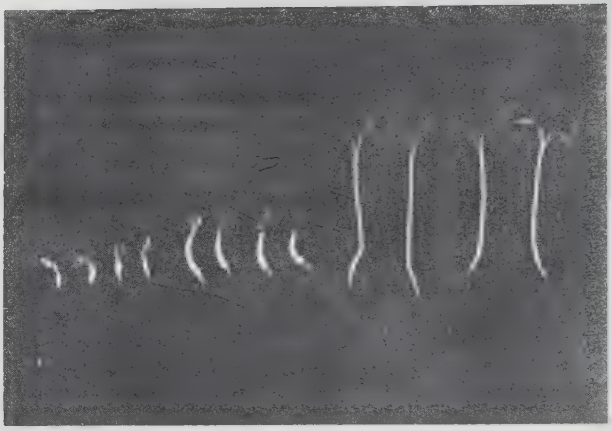



Abbildung 7 b

Kressetest (Mikrotest) mit Magenspülflüssigkeit nach 2,4-D-Aufnahme

α) Kontrollen

ß) Wachstumshemmung durch 0,1 ml (entwprechend etwa 1 γ 2,4-D) Magenspülflüssigkeit

γ) Wachstumshemmung durch 1,0 ml (entsprechend etwa 10 γ 2,4-D) Magenspülflüssigkeit

Auch hier ist die starke Hemmung der Stengelentwicklung zu beobachten, die der auf der Abb. 5 b gezeigten vollkommen entspricht.

inhalt und Harn hatte keine anderen giftigen Verbindungen mit Ausnahme von 2,4-D erkennen lassen.

In der Magenspülflüssigkeit konnten nach Extraktion nach Valow durch die spektrophotometrische Untersuchung des sauren Extraktes nach papierchromatographischer Reinigung 0,9 mg% 2,4-D festgestellt werden.

Nach Extraktion der Harnproben im sauren Milieu (pH 3) mit Äther wurde in der gleichen Weise unverändertes 2,4-D in folgenden Mengen festgestellt:

| | | |
|---|---|---|
| 1. Harn | 2./3.9. | 18,8 mg% |
| 2. Harn | 4.9. | 14,1 mg% |

1. Magenspülflüssigkeit

Zur Verwendung gelangt die Magenspülflüssigkeit ohne weitere Vorbereitung in Mengen von 1 und 0,1 ml, entsprechend etwa 10 bzw. 1 γ 2,4-D. Die Flüssigkeit wurde im Mikrotest auf die Watte angetrocknet und dann entsprechend S. weiter gearbeitet.

In allen beiden Fällen war nach 72 Stunden eine deutliche Hemmung der Entwicklung zu erkennen (Abb. 7 a und 7 b). Qualitativ entsprach diese Hemmung völlig dem bei 2,4-D beschriebenen Bild.

2. Harn

Je 50 ml der beiden Harnproben wurden im sauren Milieur mit Äther extrahiert. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und der Äther auf dem Wasserbad verjagt. Der Extraktionsrückstand wurde mit 2 ml Äthanol aufgenommen. Von der äthanolischen Lösung wurden 0,01, 0,03 und 0,05 ml entsprechend 50 ml Harn, bzw. 47, 131 und 235 γ und 35, 105, 175 γ 2,4-D im Mikrotest geprüft.

Nach 96 Std. war in allen Fällen eine deutliche Hemmung der Entwicklung zu beobachten (vergl. Abb. 6 a und 6 b).

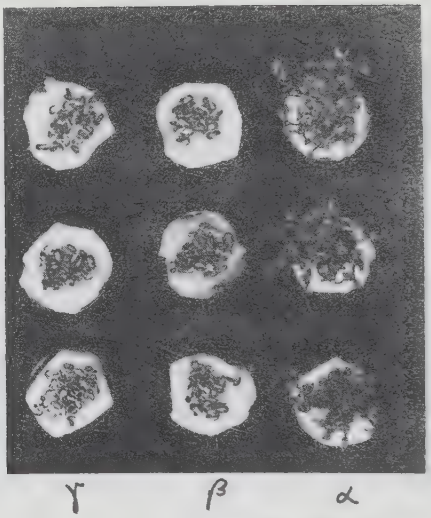



Abbildung 6 a

Kressetest mit Harnextrakten (Mikrotest)
Gesamtansicht

α) Extrakt aus normalem Harn
β) Extrakt bei 2,4-D-Vergiftung (2,4-D-Gehalt 14,1 mg%)
γ) Extrakt bei 2,4-D-Vergiftung (2,4-D-Gehalt 18,8 mg%)

Deutlich ist hier eine starke Keimhemmung im Vergleich mit dem Normalharn-Extrakt zu beobachten.

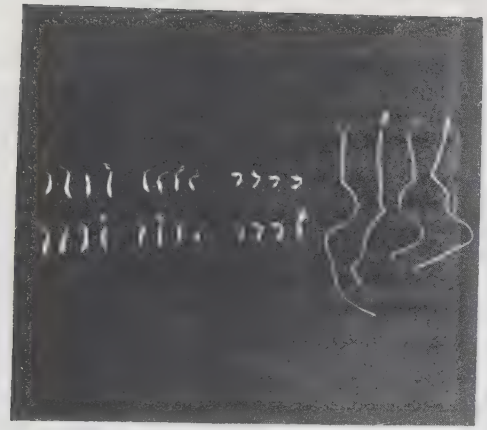



Abbildung 6 b

Kressetest mit Harnextrakten (Mikrotest)
Einzelansicht

∝) Normalharn-Extrakt
β) Extrakt aus Harn bei 2,4-D-Vergiftung
(2,4-D-Gehalt 14,1 mg%)
γ) Extrakt aus Harn bei 2,4-D-Vergiftung
(2,4-D-Gehalt 18,8 mg%)

Sehr deutlich ist die dosisabhängige Hemmung des Stengelwachstums zu beobachten.

Qualitativ war hier das gleiche Bild wie bei Einsatz von reinem 2,4-D (vergl. Abb. 5 b ) zu erkennen.

d) Untersuchung von Harnextrakten gesunder Personen

Da mit Mageninhalt und Extrakten nach 2,4-D-Aufnahme im Herbicid-Test eine deutliche Hemmung zu bemerken war, mußte geprüft werden, ob nicht schon Mageninhalt und Harnextrakt gesunder Versuchspersonen ohne 2,4-D zu einer Hemmung führten.

Von 20 gesunder Versuchspersonen, die in den letzten 24 Stunden keine Medikamente zu sich genommen hatten, wurden je 50 ml im sauren Milieu (pH 3) 2 mal mit je 100 ml Äther ausgeschüttelt. Die oragnische Phase wurde abgetrennt und mit Natriumsulfat getrocknet. Sodann wurde der Äther auf dem Wasserbad verjagt. Der Extraktrückstand wurde mit 2 ml Äthanol aufgenommen. Hiervon wurden im Mikrotest je 0,01, 0,03 und 0,05 ml geprüft.

Bei Einsatz von 0,05 ml Extrakt fanden sich unter den 20 Harnproben drei, bei denen bis zum 3. Tag eine totale Keimhemmung zu beobachten war. Am 4. Tag begann aber auch hier eine normale Entwicklung; Nach 7 Tagen war kein Unterschied zu den Kontrollen mehr zu beobachten.

Bei Einsatz von 0,05 ml Extrakt war auch bei den restlichen Proben im allgemeinen eine verminderte Wachstumstendenz zu bemerken, hauptsächlich in den ersten 48 Stunden. Dann erholten sich die Pflanzen wieder und ließen nach 72 Stunden keinen wesentlichen Unterschied gegenüber den Kontrollen erkennen. Bei allen Testpflänzchen waren die Wurzeln etwas kürzer als bei den Kontrollpflanzen, Stengelwachstum, Blätterentwicklung und Chlorophyllgehalt der Blätter waren jedoch unbeeinflußt.

e) Untersuchung von normalem Mageninhalt

Um zu prüfen, ob normalerweise im Mageninhalt wachstumshemmende Verbindungen vorkommen, führten wir Versuche mit Magenin-

halt von neun Personen durch, die nicht auf Grund einer Vergiftung gestorben waren.

Die Proben wurden innerhalb von sechs Wochen gesammelt und sodann gleichzeitig untersucht. Das Aussehen der Proben war sehr unterschiedlich; teils flüssig, teils breiig, einige enthielten unverdaute Speiserest, 2 Proben wiesen bereits Schimmelwachstum auf. Von allen Proben wurden 0,1 ml der flüssigen Anteile in ein Reagenzglas gegeben, mit Wasser auf 1 ml aufgefüllt und sodann im Mikrotest nach Antrocknen auf die Watte untersucht.

Nach 24 Stunden waren in allen Proben die Samen gequollen, teilweise konnten schon winzige Keimspitzen beobachtet werden. Nach 48 Stunden waren in 7 Schälchen die Keime 5-6 mm lang, in einem Fall 2 mm lang und in einem anderen Fall waren noch keine Keime zu beobachten. Bei der Kontrolle war zu diesem Zeitpunkt bereits hellgrüne Blättchen in den Schalen zu bemerken.

Nach weiteren 24 Stunden hatten sich bei sieben Proben die Pflanzen ebenso gut entwickelt wie bei den Kontrollen. Die Wurzeln waren gut ausgebildet und nur in 2 Schälchen noch nicht in die Watte eingedrungen; Stengellänge 5 mm. In den vorher stark gehemmten Schälchen waren nun Keimlinge zu sehen.

Nach 96 Stunden waren in allen Proben keine wesentlichen Unterschiede gegenüber der Kontrollen mehr zu erkennen.

f) Untersuchung von Harn nach Aufnahme von Diuron

Im Juli 1966 hatte eine 39 jährige Frau in suicidaler Absicht eine unbekannte Menge des Präparates "Ustinex PA" (Bayer) aufgenommen. Das Präparat enthält Diuron und Aminotriazol.

Bei der Krankenhausaufnahme konnten keine klinischen Symptome festgestellt werden. Im Harn waren weder Zucker noch Eiweiß nachweisbar. Die Transaminasen-Werte entsprachen ebenfalls der Norm.

Nach Extraktion einer Harnprobe in saurem Milieu mit Äther (vergl. S. 72) konnte nach papierchromatographischer Auftrennung durch die Absorption im UV-Licht sowie durch die spektrophotometrische Untersuchung im UV-Bereich nach Elution aus dem Papier offensichtlich weitgehend unverändertes Diuron in größerer Menge festgestellt werden (Geldmacher-v.Mallinckrodt und Schmidt).

Nach Extraktion von weiteren 50 ml Harn in der bereits beschriebenen Weise und Aufnahme des Extraktrückstandes in 2 ml Äthanol prüften wir 0,01, 0,03 und 0,05 ml hiervon im Mikrotest. Hierbei konnten die folgenden Beobachtungen gemacht werden:

| | | |
|---|---|---|
| Nach 72 Std.: | 0,01 ml | Die Stengellänge beträgt 1,5 cm, die Wurzeln sind 2 cm lang. Die Blattfarbe ist hellgrün. |
| | 0,03 ml | Die Stengellänge beträgt ebenfalls 1,5 cm, die Wurzellänge 2 cm. Die Blätter sind ganz hellgrün, fast mit einem gelblichen Einschlag. |
| | 0,05 ml | Die Stengel sind nur 9-15 mm lang, die Wurzellänge beträgt 8 mm. Die Blätter sind hellgrün-gelb. |
| Nach 96 Std.: | 0,01 ml | Es ist kein Unterschied gegenüber der Kontrolle zu beobachten. |
| | 0,03 ml | Die Stengellänge beträgt nur 1,8 cm, die Wurzeln sind nur 2 cm lang. Die Blätter haben eine zart grüne Färbung. |
| | 0,05 ml | Die Stengellänge beträgt durchschnittlich 15 mm, die Wurzeln sind 11 mm lang. Die Blätter haben noch eine hellgrüne Farbe. |

Es zeigte sich also mit einer 1,25 ml Harn entsprechenden Extraktmenge eine deutliche Hemmung sowohl des Stengel- als auch des Wurzelwachstums. Daneben trat hier auch die schon bei den Untersuchungen mit Diuron-Reinsubstanz beobachtete Störung des Chlorophyllhaushaltes auf.

## VII. Diskussion

Das Ziel der durchgeführten Untersuchung war, eine für möglichst viele Herbicidklassen anwendbaren biologischen Test zu finden, der schnell und einfach durchführbar war. Von den in der Literatur für ähnliche Prüfungen beschriebenen Pflanzen prüften wir Erbsen (Pisum sativum) sowie Kressesamen (Lepidium sativum).

Mit den Erbsen wurde der sogenannte Hypocotyl-Test durchgeführt, bei dem die zu untersuchenden Verbindungen am Hypocotyl appliziert werden. Auf Grund dieser Versuchsanordnung war der Test nur für wasserlösliche Herbicide anwendbar, nämlich für 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (2,4,5-T), γ-(4-Chlor-2-methylphenoxy)-buttersäure (MCPB), α-(2,4-Dichlorphenoxy)-propionsäure (2,4-DP), 2-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure (MCPA), α-(4-Chlor-2-methylphenoxy)-propionsäure (CMPP), 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D), Natrium-dichlorpropionat (Dalapon), 3-Amino-1,2,4-triazol (Aminotriazol) und Natriumtrichloracetat (TCA). Eine Hemmung des Wachstums der Keimwurzel war nur durch die Wuchsstoffherbicide, d.h. durch 2,4,5-T, MCPB, 2,4-DP, MCPA, CMPP und 2,4-D zu erreichen. Dalapon, Aminotriazol und TCA führten zwar zu einer geringfügigen Hemmung, die jedoch nicht eine deutliche Unterscheidung zu den Kontrollen erlaubte.

Als zusätzlicher Befund wurde bei Anwendung der Wuchsstoffherbicide eine Anschwellung am Wurzelende gefunden.

Für die Wuchsstoffherbicide ist der Erbsen-Hypocotyl-Test recht empfindlich, noch 2γ der jeweiligen Verbindungen bewirkten eine deutlich erkennbare Hemmung.

Um zu prüfen, ob in der genannten Versuchsanordnung menschliche Harnproben direkt auf die Anwesenheit von Herbiciden geprüft werden können, wurden Untersuchungen mit 20 Harnen gesunder Personen durchgeführt, deren pH-Wert zwischen 5,4 und 7,4 lagen. In allen Fällen zeigte sich im Vergleich zu den Kontrollen eine deutliche Hemmwirkung. Die Länge der Keimwurzeln betrug nach Einwirkung der Harnproben nur 19 bis 63% der Kontrollen. Diese Hemmung scheint nicht abhängig zu sein von dem pH-Wert, da bei einem pH-Wert von 6,2 Längenzunahmen zwischen 19 - 63% der Kontrollen zu beobachten waren.

Bei einem Harn fiel nach 24 Stunden auf, daß sich Anschwellungen wie bei Anwesenheit von Wuchsstoffherbiciden ausgebildet hatten. Hier konnte eine Medikamenteneinnahme (Preludin) nachgewiesen werden. Dieser Effekt war durch die Applikation von wässrigen Preludin-Lösungen nicht zu erreichen. Es kann sich hier um die Hemmwirkung von Metaboliten oder von Verbindungen handeln, die als unspezifische Antwort des Organismus auf die Medikamenteneinnahme im Harn ausgeschieden worden sind. Vor einer Anwendung des Erbsen-Hypocotyl-Testes auf Harn müßte diese Frage noch näher untersucht werden.

Da die Anwendbarkeit des Erbsen-Hypocotyl-Testes von der Wasserlöslichkeit des Herbicides abhängig ist, führten wir weitere Versuche mit Kresse durch, die schon Audus als sehr empfindlich gegen 2,4-D erkannt hatte. Durch die ausgearbeitete Versuchsanordnung: Lösung des Herbicides in Äthanol oder Wasser, tränken einer Wattelage mit der zu untersuchenden Lösung, und Verdunstenlassen des Lösungsmittels war es möglich, das Herbicid gleichmäßig zu verteilen. Nach Befeuchten mit Wasser und Auflegen von Kressesamen konnte nunmehr ein biologischer Test mit sehr vielen Herbiciden durchgeführt werden. Im Einzelnen wurden die in der auf Seite 79 wiedergegebenen Tabelle genannten Verbindungen geprüft. Die stärkste Hemmwirkung zeigte sich bei den Wuchsstoffherbiciden. Es kam zu einer Wurzelhemmung, einer Hemmung des Längenwachstums der

Stengel sowie einer kolbigen Auftreibung derselben und zu einer Störung des Geotropismus, der allerdings bei geringeren Herbicidmengen nicht mehr beobachtet wurde.

Die herbiciden Carbamate bewirkten eine starke Hemmung des Stengellängenwachstums, sowie der Wurzelentwicklung.

Von den Harnstoffverbindungen führten Diuron und OMU zu einer Störung im Chlorophyllgehalt der Blätter, außerdem zu einer Hemmung des Stengel- bzw. des Wurzelwachstums.

Atrazin bewirkte eine Hemmung des Stengel- und Wurzelwachstums. Bei Anwendung von Prometryn machte sich nur eine starke Wachstumshemmung der Stengel bemerkbar, die kräftig, aber sehr kurz waren. Simazin führte zu einer Wurzelhemmung.

Aminotriazol beeinflußte den Chlorophyllgehalt im Sinne einer Chlorose; der Geotropismus war gestört, das Wurzelwachstum stark gehemmt.

Die Anwendung von Trichloressigsäure in Mengen von 1-10 mg führte zu keiner Hemmung, sondern zur Ausbildung von außergewöhnlich langen Wurzeln, wie es Mayer schon beobachtet hatte.

Die Nachweisgrenze liegt für die Wuchsstoffherbicide sowie für die herbiciden Carbamate in der gewählten Versuchsanordnung mit etwa 1 γ sehr niedrig. Bei den anderen herbicidwirksamen Verbindungen liegt die Grenze z.T. bei 500 bis 1000 γ. Die einzelnen Werte für die Nachweisgrenze sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

| Präparat | Nachweisgrenze |
|---|---|
| 2,4-D | 1 γ |
| 2,4,5-T | 15 γ |
| MCPA | 1 γ |
| MCPB | 15 - 1 γ |
| CMPP | 1 γ |
| 2,4-DP | 1 γ |
| Dalapon | 500 γ |
| TCA | - |
| IPC | 1 mg |
| CIPC | 50 γ |
| BIPC | 50 γ |
| Triallate | 1 mg - 500 γ |
| Diuron | 100 γ |
| CMU | 250 - 125 γ |
| Monulinuron | 250 γ |
| Linuron | 250 - 125 γ |
| Atrazin | 1 mg - 500 γ |
| Prometryn | 250 γ |
| Propazin | 1 mg |
| Simazin | 1 mg - 500 γ |
| Aminotriazol | 125 - 60 γ |

Extrakte mit Äther im sauren Milieu aus Harnen gesunder Personen, nemmen die Entwicklung der Kresse nur unbedeutend. Das gleiche gilt für die untersuchten Proben von Mageninhalt, welche von Personen stammten, die nicht an einer Vergiftung gestorben waren. Dagegen bewirkten Mageninhalt nach 2,4-D-Aufnahme sowie saure Extrakte aus Harn nach Aufnahme von 2,4-D bzw. Diuron im Kresse-Test eine deutliche Hemmung, die qualitativ und quantitativ den darin enthaltenden Verbindungen und ihrer Menge entsprach. Auf Grund der Untersuchungsergebnisse scheint der biologische Test auf Herbicide unter Verwendung von Kresse in der ausgearbeiteten Versuchsanordnung geeignet, als Vorprobe auf Herbicide in biologischem Material, wie z.B.

Mageninhalt oder Harnextrakten zu dienen. Hierfür besitzt er eine gute Empfindlichkeit, insbesondere bei Anwesenheit von Wuchstoffherbiciden und herbiciden Carbamaten. Darüber hinaus kann die Art der Wachstumsschädigung gewisse Hinweise auf die Natur des vorliegenden Herbicides geben.

## VIII. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Versuchsbedingungen ausgearbeitet, die es erlauben, herbicidwirksame Verbindungen noch in sehr geringen Mengen sowohl in Reinsubstanz, in Handelspräparaten als auch in biologischem Material wie z.B. Mageninhalt oder Extrakten aus Körperflüssigkeiten nachzuweisen.

Mit Reinsubstanzen wurden folgende Nachweisgrenzen erhalten:

| Präparat | Nachweisgrenze |
|---|---|
| 2,4-D | 1 γ |
| 2,4,5-T | 15 γ |
| MCPA | 1 γ |
| MCPB | 15 - 1 γ |
| CMPP | 1 γ |
| 2,4-DP | 1 γ |
| Dalapon | 500 γ |
| TCA | - |
| IPC | 1 mg |
| CIPC | 30 γ |
| BIPC | 30 γ |
| Triallate | 1 mg - 500 γ |
| Diuron | 100 γ |
| OMU | 250 - 125 γ |
| Monulinuron | 250 γ |
| Linuron | 250 - 125 γ |
| Atrazin | 1 mg - 500 γ |
| Prometryn | 250 γ |
| Propazin | 1 mg |
| Simazin | 1 mg - 500 γ |
| Aminotriazol | 125 - 60 γ |

Dies war möglich durch Einsatz von Kressesamen (Lepidium sativum) in einer geeigneten Versuchsanordnung, bei der Keimung und weitere Entwicklung der Pflanze deutlich gehemmt wurden.

Bei einer Vergiftung mit 2,4-D sowie nach Aufnahme des Herbicides Diuron konnte in Mageninhalt sowie Harnextrakten in dem ausgearbeiteten Testverfahren deutlich die Hemmwirkung auf die Pflanzenentwicklung beobachtet werden.

Der gleichfalls geprüfte Erbsen-Hypocotyl-Test erwies sich als weniger geeignet, da er nur für wasserlösliche Herbicide anwendbar ist.

## Literaturverzeichnis

1. Allen, W.W.
American Chemical Paint Company. Techn. Service Data Sheet H 60 (1955)
zit. Kröller, E.

2. Aly, O.M. and Faust, S.D.
Herbicides in surface waters, studies on fate of 2,4-D and ester derivatives in natural surface waters.
J.agr.Food, Chem. 12, 541 (1964)

3. Assouly, M.
Désherbants sélectifs et substances de croissance. Aperçu technique. Effet pathologique sur l'homme au cours de la fabrication de l'ester du 2,4-D.
Arch.Mal.prof. 12, 26 (1951)

4. Audus, L.J.
Biological detoxication of 2,4-D in soils: isolation of an effective organism.
Nature (London) 166, 356 (1956)

5. Audus, L.J.
Plant growth substances
Academic Press London New York (1959)

6. Audus, L.J.
The physiology and biochemistry of herbicides.
Academic Press, London-New York (1964)

7. Baily, G.W. and White, J.L.
Herbicides: a compilation of their physical, chemical and biological properties.
in: Residue Reviews Vol. 10 ed. by Francis A. Gunther
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1965

8. Berkley, M.C. und Mager, K.R.
Neuropathie infolge Einwirkung eines Dimethylamin-Salzes von 2,4-D.
Arch.intern.Med. 111, 351 (1963)

9. Beyerinck, M.W.
Über das Cezidium von Nematur
Capreae auf Salix amygdalina
Bot.Ztg. 46, 17 (1888)

10. Bucher, N.L.R.
Effects of 2,4-dichlorophenoxyaceticacid on experimental animals.
Proc.Soc.exp.Biol., N.Y. 63, 204 (1946)

11. Counts, B.
Loss of geotropism and modification of root hair development produced by amitrole.
Weeds 9, 329 (1961)

12. Crafts, A.S.
The chemistry and mode of action of herbicides.
in: Advances in Pest Control Research
Vol. I
ed. by Metcalf, R.L.
Interscience Publishers, Inc. New York 1957

13. Crafts, A.S.
Translocation of herbicides. I.
The mechanism of translocation
Hilgardia 26, 287 (1956)

14. Crosby, D.G.
Metabolites of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in Bean Plants
J.Agr.Food Chem. 12, 3 (1964)

15. Dalgaard-Mikkelsen, S.V. and Poulsen E.
Toxicology of herbicides.
Pharmacol. Reviews 14, 225 (1962)

16. Darwin, Ch.
The power of movement in plants.
London 1880

17. Davies, W., Athins, G., Hudson P.C.B.
Effect of ascorbic acid and indolyl acetic acid on regeneration of willow branches and germination.
Nature 137, 618 (1936)

18. Doxey, D.
The effect of isopropyl-phenyl-carbamate on mitosis in Rye (Secale cereale) and Onion (Allium apa)
Ann.Bot.N.S. 13, 329 (1949)

19. Drill, N.A. und Hiratzka, T.
Toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid. A report of their acute and chronic toxicity in dogs.
Arch.industr.Hyg. 7, 61 (1953)

20. Du Pont, E.J.
Toxicity of 3-(p-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea and 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea.
zit.: Dalgaard-Mikkelsen, Poulsen

21. Eggert, R.G.
Unveröffentlichte Beobachtung (1959)
zit.: Kröller, E.

22. Eliasson, L.
Responses of pea roots to growth substances.
Physiologia Plantarum, 14, 803 (1961)

23. Eliasson, L.
Growth response of pea roots to 2,4-D applied to the hypocotyl.
Physiologia Plantarum 12, 834 (1959)

24. Ennis, W.B., jr.
Some cytological effects of O-isopropyl-N-phenyl carbamate upon Avena.
Am.J.Bot. 35, 15 (1948)

25. Evenari, M. and Mayer, A.M.
Bull.Res.Coun.Israel 4, 81 (1954)
zit.: Audus, L.J.

26. Evenari, M.
The biological action of growth substances.
Symp.Soc.esp.Biol. 11, 21
Cambridge Univ.Press (1957)

27. Fang, S.C., George, M. and Te Chang Yu
Metabolism of 3-amino-1,2,4-triazole-5-$C^{14}$ by rats
J.Agr.Food Chem. 12, 219 (1964)

28. Faulkner, J.K. und Woodcock, D.
Metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid ("2,4-D") by Aspergillus niger van Tiegh.
Nature (London) 203, 865 (1964)

29. Freed, V.H.
Some factors influencing the herbicidal efficacy of isopropyl-N-phenyl carbamate.
Weeds, 1, 48 (1951)

30. Freed, V.H. and Montgomery, M.L.
The metabolism of herbicides by plants and soils.
Residue reviews, Vol. 3, ed. by F.A.Gunther
Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1963)

31. Geigy, J.R.
Simazin. Information aus der Abteilung für Schädlingsbekämpfung, p. 2, Basel (1957)

32. Geigy, J.R.
Atrazin. Information aus der Abteilung für Schädlingsbekämpfung, p. 2, Basel, (1959)

33. Geldmacher-v.Mallinckrodt, M. und Lautenbach, L.
Zwei tödliche Vergiftungen (Suicid) mit chlorierten Phenoxyessigsäuren (2,4-D und MCPA)
Arch. Toxikol. 21, 261 (1966)

34. Geldmacher-v.Mallinckrodt, M. und Schmidt, H.-P.
in Vorbereitung

35. Goldstein, N.P., Jones, P.H. and Brown, J.R.
Peripheral neuropathy after exposure to an ester of dichlorophenoxyacetic acid.
J.Amer.med.Ass. 171, 1306 (1959)

36. Goldwater, L.J.
Peripheral neuropathy.
J.Amer.med.Ass. 173, 87 (1960)

37. Gowing, D.P.
A method of comparing herbicides and Assesing herbicides mixtures at the screening level.
Weeds 7, 66 (1959)

38. Grigsby, B.H. und Farwell, E.D.
Some effects of herbicides on pasture and on grazing livestock.
Bull.Mich.agric.Esp.Sta. 32, 378 (1950)

39. Gysin H. and Knüsli E.
Chemistry and herbicidal properties of Triazine derivatives.
in: Advances in Pest Control Research, Vol. 3, ed. by Metcalf, R.L., Interscience Publishers, Inc., New York, (1960)

40. Haberlandt, G.
Zur Physiologie der Zellteilung.
S.-B. preuß. Akad. Wiss. 1913, 318

41. Halliday, D.J and Templeman W.G.
Field experiments in selective weed control by plant growth regulators. IV. The effect of plant growth regulators upon the productivity of grassland.
Emp.J.Exp.Agric., 19, 104 (1951)

42. Haun, J.P. and Peterson J.H.
Translocation of 3-(p-Chlorophenyl)-1,1-Dimethylurea in plants.
Weeds 2, 177 (1954)

43. Heene, R.
Histochemischer Nachweis der Phosphorylasenhemmung durch 2,4-Dichlorphenoxyacetat (2,4-D) an Skelettmuskel und Leber der Ratte.
Naturw. 53, 308, (1966)

44. Herbich, J. und Machata, G.
Tödliche Vergiftung mit 2,4-D.
Beitrag gerichtl.Med. 22, 133 (1963)

45. Hill, E.C. und Carlisle, H.
Toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid for experimental animals.
J.industr.Hyg. 29, 85 (1947)

46. Hilton, J.L.
Riboflavin nullification of inhibitory actions of 3-amino-1,24-triazole on seedling growth.
Plant Physiology 37, 238 (1962)

47. Höfner und Nagao (1937)
zit.: bei H. Kurth
Chemische Unkrautbekämpfung
VEB Gustav Fischer Verlag Jena 1960

48. Hueper, W.C.
Carcinogenic studies of isopropyl-N-phenyl-carbamate.
Industr.Med. 21, 71 (1952)

49. Ivens, G.W. and Blackman,G.E.
The effects of phenylcarbamates on the growth of higher plants.
Symp.Soc.Esp.Biol. 3, 266 (1949)

50. Johnson, H.R.M. and Koumides, C.
A further case of MCPA poisoning
Brit.Med.J. 1965, 629

51. Kaufmann, D.C.
The Dow Chemical Company. Personal communication.
zit.: Zweig, G. (1964)

52. Klimmer, O.R.
Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel.
Abriß einer Toxikologie und Therapie von Vergiftungen.
Hundt-Verlag, Hattingen (1964)

53. Koepfli, J.B., Thimann K.V. und Went, F.W.
Phytohormones:
Structure and physiological acitivity.
J.Biol.Chem. 122, 763 (1938)

54. Kögl, F., Erxleben, H. und Haagen-Smit, A.G.
Über die Isolierung der Auxine a und b aus pflanzlichen Materialen. IX. Mitteilung.
Z.physiol.Chem. 225, 215 (1934)

55. Kögl, F. and Erxleben H.
Über die Konstitution der Auxine a und b. X.Mitteilung über pflanzliche Wachstumsstoffe.
Z.physiol.Chem. 227, 51, (1934)

56. Kögl, F., Haagen-Smit, A.J. und Erxleben, H.
Über ein neues Auxin ("Heteroauxin") aus Harn.
XI. Mitteilung.
Z.physiol.Chem. 228, 104 (1934)

57. Kröller, E.
Anwendung und Eigenschaften des 3-Amino-1,2,4-triazols im Hinblick auf seine Rückstände in Lebensmitteln.
in: Residue Reviews, Vol. 12 ed. by Gunther, F.A.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1966)

58. Kuhn, E. und Stein, W.
Die Wirkung von 2,4-Dichlorphenoxyacetat (2,4-D) in myotonieerzeugender Dosis auf die Calciumaufnahme der Vesikel des endoplasmatischen Reticulums des Skelettmuskels.
Freie Mitteilungen - 8. Internationaler Kongress für Neurologie, Wien, 5.-10. IX. 1965

59. Kurth, H.
Chemische Unkrautbekämpfung.
Jena: Gustav Fischer 1960

60. Larsen, C.D.
Evaluation of the carcinogenicity of a series of esters of carbamic acid.
J.nat.Cancer Inst. 8, 99 (1947)

61. Larson, P.S., Crawford, E.M., Smith, R.,jr., Hennigar, G.R. Haag, H.B. und Finnegan, J.K.
Chronic toxicologic studies on isopropyl-N-(3-chlorophenyl)-carbamate (CIPC).
Tox.appl.Pharmacol. 2, 659 (1960)

62. Mayer, F.
Zur Wirkungsweise von Trichloracetat auf die höhere Pflanze.
Z.f.Naturforschung 12 b, 336 (1957)

63. Mitchell, J.W., Hodgson, R.E. und Gaetjens, G.F.
Tolerance of farm animals to feed containing 2,4-D.
J.Anim.Sci. 5, 194 (1946)

64. Nielsen, K., Kaempe B. and Jensen-Holm, J.
Fatal poisoning in man by 2,4-Dichlorphenoxyacet acid (2,4-D)
Determination of the agent in forensic materials.
Acta pharmacol. et toxicol 22, 224 (1965)

65. Paál, A.
Über phototrophische Reizleitung.
Ber.dtsch.bot.Ges. 32, 499, (1914)

66. Paynter, O.E., Tusing, T.W., Mc.Collister, D.D. and Rowe, V.K.
Toxicology of dalapon sodium (2,2-dichloropropionic acid, sodium salt)
J.agri.Food Chem. 8, 47 (1960

67. Phillips, W.E.J.
The metabolism of carotene and vitamin. A following ingestion of the herbicide MCPA.
Canadian J. Animal Sci. 44, 29 (1964)

68. Phillips, W.D.J. and Hidiroglou, M.
Pesticide effects on vitamin metabolism carotenoid and vitamin A with DDT or MCPA.
J.agri. Food Chem. 13, 254 (1965)

69. Pokorny, R.
Some chlorophenoxyacetic acids.
J.Am.Chem.Soc. 63, 1768 (1941)

70. Popham, R.D. and Davies, D.M.
A case of MCPA poisoning.
Brit.med.J. 1, 677 (1964)

71. Mac Rae, C. and Alexander Martin
Microbial degradation of selected herbides in soil.
J.agri.Food Chem. 13, 72 (1965)

72. Rhodes, A., Sexton, W.A., Spencer, L.C. and Templeman W.G.
Use of isopropylphenylcarbamate to reduce sprouting of potato tubers during storage.
Research 3, 189 (1950)

73. Ries, S.K.
A theory for the selective mechanism of chloro IPC.
Weeds 2, 155 (1953)

74. Seabury, J.H.
Toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid for man and dog.
Arch.Environme. Hlth. 7, 202 (1963)

75. Seubert, E.
Über Chemotropismus bei Avena.
Biochem. Z. 150, 93 (1924)

76. Seubert,E.
Über Wachstumsregulatoren in der Koleoptile von Avena.
Z.Bot. 17, 49 (1925)

77. Shaffer, C.B.
Aminotriazole- acute and subacute toxicity.
American Cyanamid Co., Central Med. Dept., 1956
zit.: Kröller, E.

78. Slade, R.E., Templeman, G.W. and Sexton, A.W.
Plant growth substances as selective weedkillers.
Nature 155, 782 (1945)

79. Stekhoven, J.H.S., jr., Roskott, L. and Veenhof, M.J.
Over de toxicitet voor warmblodigen van isopropyl-N-phenylcarbamat (IPC).
Tijdschr. Diergeneesk. 80, 400 (1955)

80. Synderholm, M.E. and Zimmerman P.W.
The preparation of some substituted phenoxy-alkyl-carboxylic acids and their properties as growth substances.
Contribs. Boyce Thompson Inst. 14, 91 (1946)

81. Synderholm, M.E. and Zimmerman, W.P.
Preparation of a series of 2,4-dichlorphenoxyaliphatic acids.
Contr.Boyce Thompson Inst. 14, 369 (1947)

82. Swanson, C.P.
A simple bio-assay method for the determination of low concentrations of 2,4-D in aqueous solutions.
Bot. Gaz. 107, 507 (1946)

83. Templeman, W.G. and Sexton, W.A.
Effect of some arylcarbamic esters and related compounds upon cereals and other plant species.
Nature 156, 630 (1945)

84. Thomas, E.W., Loughman, B.C. and Powell, R.G.
Metabolic fate of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the stem tissue of phaseolus vulgaris.
Nature (London) 204, 884 (1964)

85. Tilemans, E.M. et Dormal, S.
La toxicité des produits antiparasitaire.
Rev. Agric. 7, 974 (1954)

86. Wain, R.L.
Herbicidal selectivity through specific action of plants on compounds applied.
Journal agric. and Food Chem. 3, 128 (1955)

87. Weir, R.J., Paynter, O.E. and Elsera, J.A.
Toxicology of 3-amino-1,2,4-triazole.
The Hormolog 2, 13 (1958)

88. Went, F.W.
Wuchsstoff und Wachstum.
Rec.Trav.bot. neêrl. 25, 1 (1928)

89. Went, F.W.
A test method for rhizocaline, the rootforming substance.
Proc. kon. ned. Akad. Wet. 37, 445 (1934)

90. Westrick, M.L., Gross, P. and Schrenk, H.H.
Toxicity of isopropyl-N-(3-chlorophenyl)-carbamate: ninetyday feeding experiments. Unpublished data, 1954.
zit.: Larson, P.S., Crawford, E.M., Smith, R. jr., Hennigar, G.R., Haag, H.B. and Finnegan, J.K.

91. Witman, E.D. and Newton, W.F.
Chloro IPC - A new herbicide.
Proc. Northeastern Weed Control Conf. 5, 45 (1951)

92. Woodard, G., Lange, S.W., Nelson, K.W. and Valvery, H.O.
The acute oral toxicity of acetic, chloracetic, dichloracetic and trichloracetic acids.
J.industr.Hyg. 23, 78 (1941)

93. Zimmerman, P.W., and Hitchcook, E.A.
Substituted phenoxy and benzoic acid growth substances and the relation of structure to physiological activity.
Contr.Boyce Thompson Inst. 5, 1 (1942)

94. Zimmerman, P.W. and Wilcoxon, F.
Several chemical growth substances which cause initiation of roots and other responses in plants.
Contrib. Boyce Thompson Inst. 7, 209, (1935)

95. Zweig, G.
Analytical methods for pesticides, plant growth regulators and food additives. Vol. IV Herbicides
Academic Press, New York und London (1964)

Zum Schluß der Arbeit erlaube ich mir, Herrn Professor Dr.Dr.E.Weinig für die Überlassung eines Arbeitsplatzes in seinem Institut meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Privatdozentin Dr.Dr.M.Geldmacher-v.Mallinckrodt für die zahlreichen Anregungen und für die große Hilfsbereitschaft, die mir die Fertigstellung dieser Arbeit ganz wesentlich erleichterten.

Für die Anfertigung der schönen Foto's möchte ich mich bei Herrn Hauptpräparator O. Opitz recht herzlich bedanken.

Mein Dank gilt auch den Firmen, die uns ihre Präparate sehr großzügig überlassen haben und damit zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

## Lebenslauf

Am 13. April 1939 wurde ich als Tochter des Kaufmanns Hans Goebel und seiner Ehefrau Erika geb. Köhnecke in Hannover geboren.

Von 1945 bis 1950 besuchte ich die Volksschule in Hannover. 1950 wechselte ich in die Käthe-Kollwitz-Schule in Hannover über. Dort bestand ich im Frühjahr 1959 die Reifeprüfung.

Im Sommersemester 1959 begann ich in Freiburg mit dem Medizin-Studium. Dort legte ich 1960 das Vorphysikum ab. Anschließend ging ich an die Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen.

Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im Frühjahr 1962 und schloß mein Studium mit dem Staatsexamen im September 1965 in Erlangen ab. Im März begann ich meine Medizinalassistenzeit im Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik. Seit Juni 1966 bin ich Medizinalassistentin an der medizinischen Poliklinik der Universität Erlangen-Nürnberg.

Ich bin mit dem Tennislehrer Lorenz Breitenlohner verheiratet. Im Juli 1963 wurden unsere Kinder Stefan und Frank gebo ren.

Offsetdruck - Fotodruck
**Josef Hogl**
8520 Erlangen, Brüxerstraße 9, (Nähe Röthelheimbad,) Tel. 15336

Offsetdruck - Fotodruck

- J. Hogl, Erlangen, Brüxer Straße 9, (Nähe Röthelheimbad) Telefon 15336 -